



FAKULTA POTRAVINÁŘSKÉ
A BIOCHEMICKÉ TECHNOLOGIE
VŠCHT PRAHA

Studentská Vědecká Konference

2021

2. 12. 2021

SBORNÍK ANOTACÍ

Fakulta potravinářské a biochemické technologie

Organizační tým

FAKULTNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Michaela Marková, Ph.D.

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 CEREÁLÍ

Ing. Roman Bleha, Ph.D.

322 ÚSTAV MLÉKA, TUKŮ A KOSMETIKY

doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.

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](#)

SPONZOŘI

arxada

avantor™

bioTech

innovative

MERCK



Plzeňský Prazdroj

Biotechnologie I

MÍSTO: ONLINE

KOMISE

prof. Dr. Ing. Petra Patáková (předseda)

doc. Ing. Olga Maťátková, Ph.D.

Ing. Lukáš Jelínek, Ph.D.

PROGRAM

09:00 zahájení

[Bc. Jan Fiala](#) (B1, prof. Ing. Pavel Dostálek, CSc.)

Stabilizace piva pomocí křemičitých gelů

[Bc. Žaneta Hlochová](#) (M2, doc. Ing. Milada Plocková, CSc.)

Antibiotická rezistence enterokoků ze sýrů vyrobených z nepasterovaného mléka

[Bc. Tereza Stárková](#) (M2, doc. Dr. Ing. Michaela Rumlová)

Identifikace a charakterizace interakce mezi kapsidovým proteinem viru hepatitidy B a buněčnou E3 ubikvitin ligázou HUWE1

[Bc. Mark Terentyak](#) (M2, Ing. David Kubáč, Ph.D.)

*Vliv kultivačních podmínek na produktivitu *Arthrospira maxima*.*

[Štěpánka Titlová](#) (M2, prof. Ing. Tomáš Brányik, Ph.D.)

Využití alternativních mikroorganismů v pivovarství

[Bc. Lucie Černá](#) (M2, prof. Ing. Zdeněk Wimmer, DrSc.)

Syntéza derivátů oximů vybraných triterpenoidů a jejich biologická aktivita

[Bc. Larisa Šinkovec](#) (M2, doc. Dr. Ing. Michaela Rumlová)

The role of G-patch domain in the activity of reverse transcriptase of Mason-Pfizer monkey virus

vyhlášení výsledků

Stabilizace piva pomocí křemičitých gelů

Bc. Jan Fiala (B1)

Školitel: prof. Ing. Pavel Dostálek, CSc.

Mezi prekurzory, které mají vliv na koloidní stabilitu piva, patří zejména proteiny a polyfenoly, někdy také minoritně polysacharidy a jiné další látky. Cílem této práce bylo zjistit účinnost nově vyvíjených přípravků na koloidní stabilizaci piva. Tyto přípravky mají zabránit koloidnímu zákalu způsobenému proteiny. Testováno bylo celkem jedenáct přípravků a ty byly porovnány se dvěma kontrolními, které se již komerčně používají. Z naměřených dat je zřejmé, že většina nově ověřovaných přípravků pomáhá koloidně stabilizovat pivo. Bylo však zjištěno, že mezi přípravky jsou i takové, u kterých se účinnost nepotvrdila nebo byla minimální. Všechny přípravky budou podrobeny dalšímu testování.

Antibiotická rezistence enterokoků ze sýrů vyrobených z nepasterovaného mléka

Bc. Žaneta Hlochová (M2)

Školitel: doc. Ing. Milada Plocková, CSc.

Enterokoky jsou nedílnou součástí mikroflóry spontánně fermentovaných potravin zahrnujících sýry vyráběné z nepasterovaného mléka. Tyto bakterie mléčného kvašení jsou v nezanedbatelných množstvích přijímány do gastrointestinálního traktu člověka, ve kterém dochází k interakcím s rezidentní střevní mikroflórou konzumenta. V současné době problematického celosvětového nárůstu rezistence k antibiotikům u klinicky relevantních bakterií si enterokoky vyžádaly pozornost jakožto možné donory a rezervoáry genů antibiotické rezistence. Záměrem této práce bylo prověřit výskyt enterokoků ve vybraných průmyslově produkovaných a lokálních řemeslných sýrech vyráběných ze syrového mléka, a u zvolených izolátů ze sýrů následně determinovat fenotyp rezistence k antibiotikům pomocí E-testu a mikrodiluční metody. Testovaný soubor sýrů zahrnoval sýry polotvrdé, tvrdé i plísňové, a četnost výskytu enterokoků v některých z nich dosahovala hodnot v řádu až 10^7 KTJ v 1 g sýru. U vybraných sýrů byl stanoven celkový počet enterokoků s antibiotickou rezistencí k vankomycinu, tetracyklinu a erytromycinu. U vankomycin rezistentních izolátů bude dále prověřována rezistence k dalším antibiotikům s cílem detekovat multirezistentní kmeny.

Identifikace a charakterizace interakce mezi kapsidovým proteinem viru hepatitidy B a buněčnou E3 ubikvitin ligázou HUWE1

Bc. Tereza Stárková (M2)

Školitel: doc. Dr. Ing. Michaela Rumlová

Virus hepatitidy B neboli HBV způsobuje celosvětově rozšířené onemocnění nazývané hepatitida typu B, jež patogenně působí na lidské hepatocyty a je hlavní příčinou virové hepatitidy, cirhózy a rakoviny jater. HBV kapsidový (core, HBc) protein je jedním ze 7 proteinů, ze kterých se virus skládá a zastává v buňce celou řadu funkcí. Účastní se např. enkapsidace virové pgRNA, reverzní transkripce pgRNA do rcDNA a epigenetické regulace transkripce virové RNA. Předmětem experimentální práce je validovat interakci mezi HBc a buněčnou E3 ubikvitin ligázou HUWE1 v buňkách pomocí ko-imunoprecipitace. Další část experimentů zahrnuje mapování interakční domény, jež má za cíl vymezit oblast, kde se HUWE1 váže na HBc, a to s využitím různě dlouhých delečních mutantů HBc. Při studiu interakce je také sledován vliv HUWE1 na ubikvitinylaci HBc v přítomnosti nadprodukovaného HUWE1 a ubikvitinu. S využitím serinových mutantů obsahujících mutaci serinu na alanin, kteří pozbyli schopnost serinové hyperfosforylace na C-terminální doméně HBc, je sledován vliv fosforylace na ubikvitinylaci HBc. V budoucnu bude např. analyzován vliv HUWE1 na replikaci HBV po nadprodukcii nebo depleci HUWE1 pomocí RNA interference s využitím siRNA. Výzkum má přispět k vysvětlení role HBc v replikačním cyklu HBV.

Vliv kultivačních podmínek na produktivitu Arthrospira maxima.

Bc Mark Terentyak (M2)

Školitel: Ing. David Kubáč, Ph.D.

Tato práce se zabývá vlivem kultivačních podmínek na fotoautotrofní růst cyanobakterie *Arthrospira (Limnospira) maxima*, která je dnes hojně využívána v potravinářství. Hlavním cílem práce bylo upravit kultivační proces tak, aby byly sníženy náklady na produkci biomasy a nedošlo ke snížení produktivity. Byly provedeny experimenty se zaměřením na složení aeračního plynu a možnosti dodávky CO₂, zdroje dusíku a zdroje světla. Bylo prokázáno, že za daných podmínek je pro kultivaci naprosto nezbytný přídavek CO₂ do aeračního plynu. Bez něj dochází k nárůstu pH až na 12,2, které je pro buňky letální. Dále byl porovnáván standardně používaný NaNO₃ s močovinou. Z výsledků vyplývá, že je možné použít levnější močovinu jako náhradu za NaNO₃ za současného zvýšení produktivity o 35 %. Poslední část práce byla zaměřena na zdroje světla. Bylo testováno několik různých zdrojů světla vyzařující jak polychromatické, tak monochromatické záření. Jako zdroje světla byly použity LED pásy. U každé pásy byl měřen příkon a byla stanovena produktivita jednotlivých kultur. Z naměřených dat vyplývá, že finančně nejvýhodnější jsou zdroje světla vyzařující polychromatické záření.

Využití alternativních mikroorganismů v pivovarství

Štěpánka Titlová (M2)

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

Využití alternativních mikroorganismů v pivovarství je zaměřeno na využití jiných než pivovarských kvasinek druhu *Saccharomyces* a non-*Saccharomyces* pro výrobu nealkoholických a nízkoalkoholických piv. Ta v současné době nacházejí velké uplatnění ať už ze zdravotních nebo náboženských důvodů. Tyto kvasinky zpravidla postrádají schopnost metabolizovat maltózu, hlavní zkvasitelný cukr mladiny, proto výsledná piva mají nízký obsah alkoholu. Navíc při kvašení může docházet k tvorbě vedlejších produktů se zdravotně pozitivním vlivem na lidský organismus. Fermentované nealkoholické a nízkoalkoholické nápoje kvašené alternativními druhy mají významný tržní potenciál. Tato práce se zabývá zkoumáním vinařské kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* 19K19K2 a *Diutina rugosa* VP16C1. Byla sledována jejich schopnost růstu při různých teplotách, vliv různých koncentrací ethanolu a iso- α -hořkých kyselin. Zkoumání těchto parametrů je součástí procesu posuzování, je-li kvasinka vhodná pro průmyslovou produkci nealkoholických piv. Nejvyšších hodnot specifické růstové rychlosti bylo pro *D. rugosa* dosaženo při 15 °C, $\mu = 0,17 \text{ h}^{-1}$ a pro *S. cerevisiae* při 25 °C, $\mu = 0,41 \text{ h}^{-1}$. Přítomnost ethanolu (5 % v/v) snížila růstovou rychlost *S. cerevisiae* o 19 % a nejvyšší koncentrace iso- α -hořkých kyselin (50 IBU) o 9 %.

Syntéza derivátů oximů vybraných triterpenoidů a jejich biologická aktivita

Bc. Lucie Černá (M2)

Školitel: prof. Ing. Zdeněk Wimmer, DrSc.

Předmětem této práce je strukturní modifikace vybraných triterpenoidů. Práce je konkrétně zaměřena na syntézu několika vhodných derivátů oximů betulonové a platanové kyseliny. Připravené látky jsou následně izolovány, purifikovány a charakterizovány příslušnými analytickými metodami. Samotným výsledkem je pak testování vzniklých sloučenin a meziproduktů na antimikrobiální aktivitu pomocí diluční destičkové a diskové metody a resazurinového testu za využití čtyř druhů bakterií (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa*) a současně zjištění cytotoxicity.

The role of G-patch domain in the activity of reverse transcriptase of Mason-Pfizer monkey virus

Bc. Larisa Šinkovec (M2)

Školitel: doc. Dr. Ing. Michaela Rumlová

This work is focused on the role of G-patch domain (GPD) in the activity on reverse transcriptase (RT) of Mason-Pfizer monkey virus (M-PMV). GPD is a conserved glycine-rich domain localized at the 3' end of the *pro* gene of M-PMV. Preliminary results of our laboratory gained by qPCR showed that virus-derived RT activity differs in the presence and absence of the GPD. In order to further investigate the effect of GPD on RT activity, we firstly produced both proteins: M-PMV RT and M-PMV GPD-RT. Initial attempts of production proteins using *E.coli* BL21 cells were however not successful, as no RT expression was detected. Upon further inspection of M-PMV genome, codon bias was identified as the most likely problem. In an attempt to remedy the situation, two RT arginine codons were modified by the introduction of two silent mutations, replacing the rare CGA for a more common CGG arginine codon. The vectors carrying codon-optimized RT and GPD RT genes were then expressed *E.coli* BL21 Rosetta cells. This modification resulted in a moderate expression of both RT and GPD RT proteins, which were however, highly degraded. Subsequent experiments were focused on optimizing of the production protocol in order to obtain less degraded and enzymatically active proteins.

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. Zuzana Barešová](#) (M2, doc. Ing. Olga Mařátková, Ph.D.)

Extrakty z odpadů ze zpracování révy vinné a jejich vliv na biofilmy probiotik

[Bc. Eliška Kroupová](#) (M2, prof. Ing. Jan Masák, CSc.)

Pterostilben jako potenciální aditivum k vybraným antibiotikům v boji proti rezistenci Staphylococcus aureus

[Bc. Lenka Majerová](#) (M2, doc. Ing. Irena Kolouchová, Ph.D.)

Metody sledování tvorby biofilmu vláknitých mikromycet

[Bc. Tereza Náhlíková](#) (M2, doc. Ing. Petr Kašťánek, Ph.D.)

Extrakty oddenků a kořenů rostlin a jejich biologické aktivity

[Ivan Saloň](#) (M2, doc. Mgr. Andrej Sinica, Ph.D.)

Supramolecular polysaccharide micromaterials with potential photodynamic activity tested on 2D and 3D in vitro cell culture models

[Bc. Markéta Verešová](#) (M2, doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.)

Účinky subtoxických koncentrací chlorovaných parafínů na oxidační stres a zánětlivou signalizaci

[Martin Šivel](#) (M2, prof. Ing. Alena Čejková, CSc.)

*Antibakteriální aktivita stříbrných a zlatých nanočástic vytvořených pomocí
extraktů z Vitis vinifera a Cannabis sativa*

vyhlášení výsledků

Extrakty z odpadů ze zpracování révy vinné a jejich vliv na biofilmy probiotik

Bc. Zuzana Barešová (M2)

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

Souvislost zdraví a stravy je nezpochybnitelná. Potrava ovlivňuje profil střevní mikrobioty, která má kromě metabolické role také roli trofickou a protektivní, jež zahrnují ovlivnění maturace imunitního systému a zabránění infekci patogeny osídlením střev. Réva vinná (*Vitis vinifera*) je světově nejvíce pěstovanou ovocnou plodinou a jejím zpracováním vzniká velké množství odpadů, například při zelených pracích na vinohradu či samotné výrobě vína. U produktů z těchto odpadů existuje možnost jejich využití i v různých formách doplňků stravy díky antioxidačním a antimikrobiálním vlastnostem, které jsou úzce spjaté s vysokým obsahem polyfenolů v nich. Cílem práce bylo charakterizovat extrakty z matolin, třapin a letorostů révy vinné a sledovat jejich vliv z hlediska celkového obsahu polyfenolů na biofilmy probiotik *Lactobacillus rhamnosus* GG a *Lactobacillus casei* Lafti L-26. V případě extraktů z třapin a letorostů byla u obou mikroorganismů se zvyšujícím se obsahem polyfenolů pozorována stimulace růstu biofilmu a v případě extraktu z matolin klesající trend a inhibice až o 54 %. V závislosti na složení a původu mají extrakty z *Vitis vinifera* potenciál využití jako součást doplňků stravy zaměřených na podporu růstu probiotických bakterií.

Pterostilben jako potenciální aditivum k vybraným antibiotikům v boji proti rezistenci Staphylococcus aureus

Bc. Eliška Kroupová (M2)

Školitel: prof. Ing. Jan Masák, CSc.

Bakterie *Staphylococcus aureus* je nejvíce patogenním druhem rodu *Staphylococcus*. *S. aureus* způsobuje mnoho vážných infekčních onemocnění včetně život ohrožujících nemocí jako je například syndrom toxického šoku. Běžně *S. aureus* také způsobuje endokarditidu či problémy dýchacích cest. Kromě schopnosti invaze lidského organismu a působení zdravotních problémů je v posledních letech tato bakterie spojována s rezistencí k antibiotikům. To je důvodem hledání látek, které by mohly léčbu antibiotik doplnit a pomoci tak zpomalit narůstající rezistenci. V této práci jsme se zaměřili na působení pterostilbenu, přírodní látky izolované například z borůvek nebo vinné révy. Zkoumány byly účinky pterostilbenu na tvorbu biofilmu čtyř kmenů bakterie *S. aureus* v kombinaci se třemi vybranými antibiotiky (erythromycin, vankomycin a tetracyklin). Bylo zjištěno, že samotná antibiotika nemají významný inhibiční účinek na tvorbu biofilmu ani u jednoho ze čtyř kmenů. Naopak v kombinaci s pterostilbenem došlo ve většině případů k alespoň 80% inhibici metabolické aktivity buněk biofilmu u použité koncentrace pterostilbenu $58 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a daných antibiotik v rozmezí $5 - 100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Lze tedy předpokládat, že pterostilben je vhodné aditivum k antibiotikům používaných k léčbě infekcí *S. aureus*.

Metody sledování tvorby biofilmu vláknitých mikromycet

Bc. Lenka Majerová (M2)

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

Tvorba biofilmu je velmi rozšířenou strategií mikroorganismů zvýhodňující je před planktonní formou. Mikrobiální biofilmy kontaminujících mikroorganismů jsou komplikací v potravinářství, ale i v průmyslu. Mezi nejméně prostudované formy patří biofilmy mikromycet. Tato práce je zaměřena na výběr vhodných metod kvantifikace biofilmu mikromycet. Byly vybrány 4 metody, které jsou běžně používány pro kvantifikaci bakteriálních biofilmů a následně otestovány na jednodruhových biofilmech tvořených zástupci *Alternaria alternata* DBM 4004, *Aspergillus niger* DBM 4054, *Fusarium culmorum* DBM 4044, *Fusarium graminearum* DBM 4344 s délkou kultivace 24, 48, 72 hodin. Pro stanovení celkového množství biomasy byla použita metoda využívající barvení krystalovou violetí, při které byla u *Fusarium culmorum* DBM 4044 zjištěna nejvyšší hodnota. Pro měření metabolické aktivity byly použity metody využívající sloučeniny MTT, XTT nebo resazurin. Nejvyšší metabolická aktivita byla pomocí metod MTT a XTT zjištěna u zástupců rodu *Fusarium*. Resazurinová metoda byla u všech testovaných biofilmů nefunkční.

Extrakty oddenků a kořenů rostlin a jejich biologické aktivity

Bc. Tereza Náhlíková (M2)

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

Mezi biologicky aktivní látky patří mimo jiné i látky s antioxidační aktivitou. Některé z těchto látek například prokazatelně snižují riziko vzniku srdečně-cévních chorob nebo některých typů rakoviny. Tyto látky v organismu zachytávají reaktivní kyslíkaté a dusíkaté částice, čímž zabraňují např. škodlivé oxidaci lipidů a nukleových kyselin. Z tohoto důvodu jsou dnes hojně studovanou skupinou látek. V mé práci jsme se zaměřili na optimalizaci extrakce, těchto látek, z vybraných kořenů a oddenků rostlin. Pro účel práce proběhla extrakce u následujících kořenů a oddenků rostlin: kosatec, ďáblův dráp, kostival, pampeliška a lékořice. U vytvořených extraktů se následně spektrofotometricky stanovil obsah flavonoidních a polyfenolických látek.

Supramolecular polysaccharide micromaterials with potential photodynamic activity tested on 2D and 3D in vitro cell culture models

Ivan Saloň (M2)

Školitel: doc. Mgr. Andrej Sinica, Ph.D.

Many polysaccharides based biotechnological applications received an importance in biomedical fields and this trend still continues to grow. One of the possibilities of their use is the preparation of polysaccharide microparticles, which can be modified by supramolecular interactions, for example with porphyrin. In this particular case, chitosan polysaccharide micromaterials were prepared by spray drying and subsequently modified with water-soluble porphyrin TPPS4. The surface morphology of the prepared particles was monitored by SEM. The composite materials were further studied by ATR-FTIR and Raman spectroscopy. Materials presented in this work can find the potential application in photodynamic therapy and can be assessed for their biological effect on 2D and 3D in vitro cell culture models.

Účinky subtoxických koncentrací chlorovaných parafínů na oxidační stres a zánětlivou signalizaci

Bc. Markéta Verešová (M2)

Školitel: doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.

Chlorované parafíny (CPs) představují velmi významné kontaminanty životního prostředí, které jsou v současné době intenzivně studovány z hlediska možných závažných nežádoucích účinků na zdraví člověka. Publikované studie dokazují přítomnost CPs v mnohých potravinách, dokonce i ve vzorcích krevního séra obyvatel České republiky. Chlorované parafíny s krátkým uhlíkovým řetězcem (SCCPs), které byly roku 2017 zařazeny na seznam perzistentních organických polutantů, též podléhají klasifikaci 2B dle IARC. Jejich použití je nyní regulováno příslušnými orgány, ovšem pouze SCCPs, ostatní chlorované parafíny, tedy dle klasifikace ty se středně dlouhým uhlíkovým skeletem (MCCPs) a s dlouhým (LCCPs) jsou stále hojně používány bez jakýchkoliv omezení. Přitom mechanismus účinku ani vliv CPs na lidský organismus není v současné době dostatečně popsán. Předmětem naší práce bylo *in vitro* studium CPs s důrazem na ovlivnění oxidačního stresu a signalizaci imunitních i tukových buněk. Působení CPs bylo studováno též na poli mírného zánětu jako simulace prostředí těla pacienta trpícího chronickým zánětlivým onemocněním (např. diabetes mellitus, aterosklerózou či metabolickým syndromem), pro možné výraznější ovlivnění oxidačního stresu i zánětlivé signalizace.

Antibakteriální aktivita stříbrných a zlatých nanočástic vytvořených pomocí extraktů z Vitis vinifera a Cannabis sativa

Martin Šivel (M2)

Školitel: prof. Ing. Alena Čejková, CSc.

Nanočástice kovů jsou často diskutovaným tématem díky jejich jedinečným vlastnostem. Z hlediska využití mají potenciál být uplatněny v elektrotechnice, textilním průmyslu nebo v medicíně. Výskyt multirezistentních patogenních mikroorganismů je v dnešní době akutním globálním problémem; pro výzkumníky celého světa je proto cílem najít uspokojivé řešení. Možnou odpovědí by mohly v budoucnu být nanočástice kovů nebo jejich kombinace s dalšími biologicky aktivními látkami. Tato práce se zabývá antibakteriálními vlastnostmi nanočástic stříbra a zlata, které byly připraveny pomocí rostlinných extraktů. Inhibiční účinky byly testovány na kmenech podmíněně patogenní gramnegativní bakterie *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145, ATCC 15442, DBM 3777, DBM 3081, PAO1). Ve studii byly použity ethanolové extrakty z *Cannabis sativa* a *Vitis vinifera*. Jako zdroj stříbrných iontů byl při syntéze nanočástic stříbra zvolen AgNO_3 a pro tvorbu zlatých nanočástic byla použita HAuCl_4 . Přítomnost nanočástic byla dokázána pomocí UV-Vis spektroskopie a transmisní elektronové mikroskopie (TEM). Při testování antibakteriálních vlastností kovových nanočástic byla testována inhibice metabolické aktivity a tvorby biomasy a ke zhodnocení inhibice planktonních buněk bylo použito mikrokultivační zařízení Bioscreen C.

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. Martina Andresová](#) (M2, prof. Ing. Pavel Dostálek, CSc.)

Aplikace pulsního magnetického pole v potravinářství

[Bc. Jakub Gallas](#) (M2, Ing. Barbora Branská, Ph.D.)

Studium inhibičních účinků látek pocházejících ze zpracování lignocelulózy na mikrobiální producenty butanolu

[Bc. Anna Klimešová](#) (M2, doc. Dr. Ing. Michaela Rumlová)

Příprava konstruktů pro expresi C-terminální domény podjednotek NMDA receptoru

[Bc. Adéla Kubíčková](#) (M2, doc. Ing. Irena Kolouchová, Ph.D.)

Charakterizace bakteriálních izolátů z radonových pramenů

[Bc. Andrii Vasyltchuk](#) (M2, Ing. Lukáš Jelínek, Ph.D.)

Charakteristika produktů Maillardovy reakce sladu

[Bc. Lucie Zvonařová](#) (M2, Ing. Barbora Branská, Ph.D.)

*Produkce, separace a biologická aktivita sekundárních metabolitů houby *Monascus**

vyhlášení výsledků

Aplikace pulsního magnetického pole v potravinářství

Bc. Martina Andresová (M2)

Školitel: prof. Ing. Pavel Dostálek, CSc.

Práce se zabývá vlivem pulzního magnetického pole na živé organismy a jeho aplikacemi v potravinářství. Dosud byl vliv pulsního magnetického pole (PMP) zkoumán pro zvýšení klíčivosti a klíčivé energie semen. Například při působení PMP na osivo jahody zahradní došlo ke zvýšení klíčivosti a klíčivé energie. Jako optimální bylo vyhodnoceno působení frekvencí 16 Hz a expoziční doba byla 360 sekund při indukci magnetického pole 5mT. Dosavadní výzkum PMP na mikroorganismy byl cílen na stimulaci růstu. Podle posledních prací ovšem vede působení PMP spíše k určitému stresu mikroorganismů, což vede ke změnám v produkci sekundárních metabolitů. Tato práce byla zaměřena na aplikaci PMP ve sladařské a pivovarské technologii. Při výrobě sladu bylo zkoušeno působení PMP na vstupní ječmen a ovlivnění kvality a parametrů sladařského procesu a finálního sladu. Vliv PMP byl rovněž zkoušen na mikroorganismy používané v potravinářském průmyslu. Byl zkoušen vliv PMP na růst a projevy mikroorganismů používaných v mlékárenském průmyslu a v pivovarství.

Studium inhibičních účinků látek pocházejících ze zpracování lignocelulózy na mikrobiální producenty butanolu

Bc. Jakub Gallas (M2)

Školitel: Ing. Barbora Branská, Ph.D.

Zajímavým zdrojem pro produkci butanolu je lignocelulóza. Je to rostlinný, levný a obnovitelný substrát, který pochází ze zemědělských odpadů, dřevozpracujícího průmyslu anebo z komunálních odpadů. Aby bylo možno použít lignocelulózu jako vhodný zdroj sacharidů, je potřeba ji vystavit procesu předúpravy. Při těchto procesech však vznikají různé látky inhibiční povahy. Cílem této práce je pozorování vlivu inhibičních účinků kyseliny ferulové, kyseliny p-kumarové, furfuralu, syringaldehydu, KCl a NaCl, pocházejících ze zpracování lignocelulózy, na různé produkční kmeny bakterií rodu *Clostridium*. Práce také zkoumá, jak inhibitory působí na produkci rozpouštědel při aceton-butanolové fermentaci. Během experimentu je průběžně měřen růst buněk pomocí spektrofotometru při vlnové délce 600 nm. Na konci experimentu jsou odebrány vzorky, kdy je pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie stanoveno množství produkovaných rozpouštědel, zejména butanolu. Předběžné výsledky ukázaly, že právě koncentrace daného inhibitoru, je klíčová. Při různých koncentracích byla pozorována jak inhibice, tak stimulace růstu buněk.

Příprava konstruktů pro expresi C-terminální domény podjednotek NMDA receptoru

Bc. Anna Klimešová (M2)

Školitel: doc. Dr. Ing. Michaela Rumlová

NMDA receptory jsou transmembránové proteiny řazené mezi ionotropní glutamátové receptory. Skládají se ze čtyř podjednotek tvořících iontový kanál permeabilní pro vápenaté ionty. Hrají důležitou roli v neuroplasticitě a procesech učení a paměti, mohou ale působit i excitotoxicky a podílet se na neurologických onemocněních, jako je například Alzheimerova choroba. Strukturně nejméně prozkoumané části NMDA receptorů představují C-terminální domény (CTD) jejich podjednotek, jejichž disfunkce mimo jiné souvisí s rozvojem neurodegenerativních onemocnění. Jelikož jsou tyto domény vnitřně nestrukturované, není snadné je získat pomocí expresních systémů, aniž by nedocházelo k jejich degradaci. Vhodným a využívaným přístupem je produkce takovýchto proteinů ve fúzi s různými proteiny a v komplexu s interakčním partnerem. Tato práce se zaměřuje na studium CTD N1 a N2 podjednotek a v tomto případě je jako fúzní protein využívána MBP kotva, která obecně zvyšuje rozpustnost produkováných proteinů. Cílem práce je připravit vhodné konstrukty pro expresi CTD a získat ji ve stabilní formě, což by umožňovalo charakterizaci její struktury, otevírající nový možný přístup k potenciálnímu studiu léčby neurodegenerativních onemocnění.

Charakterizace bakteriálních izolátů z radonových pramenů

Bc. Adéla Kubíčková (M2)

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

Jáchymovské radonové prameny se vyznačují vysokou radioaktivitou. I takto nepříznivé prostředí osidluje jedinečné druhy mikroorganismů, které se řadí mezi extremofily. Bakterie mají vyvinuty speciální mechanismy, které je chrání před vysokou koncentrací rozpuštěného radonu, a tím před účinky působení vysokých koncentrací reaktivních kyslíkových částic. Tyto mechanismy zahrnují antioxidační enzymy, pigmenty, vyšší intracelulární poměr koncentrací manganu a železa a další. Tato práce je zaměřena na stanovení míry odolnosti bakteriálních izolátů z Jáchymovských pramenů vůči různým typům oxidačního stresu. Z izolátů byly vybrány zástupci kmene *Actinobacteria* produkující barevné pigmenty, u nichž byla zjišťována rezistence vůči UV záření, která byla stanovena výpočtem KTJ. Tolerance k přítomnosti peroxidu vodíku a mitomycinu byla stanovena spektrofotometricky měřením růstové křivky. Dále byla testována odolnost vůči vysychání, kdy životaschopnost buněk po dlouhodobém působení nízké aktivity vody byla stanovena pomocí fluorescenčních barviv SYTO 9 a propidium jodid s využitím průtokového cytometru. Také byl zjištěn poměr Mn:Fe v buněčné sušině. Cílem práce je najít radiorezistentní druhy *Actinobacteria*, jejichž specifické vlastnosti by mohly být využity v biotechnologiích.

Charakteristika produktů Maillardovy reakce sladu

Bc Andrii Vasylytchuk (M2)

Školitel: Ing. Lukáš Jelínek, Ph.D.

Melanoidiny jsou vysokomolekulární, senzoricky aktivní produkty Maillardovy reakce se složitou, dosud přesně neznámou strukturou. Je všeobecně známo, že melanoidiny přímo ovlivňují barvu, chuť a aroma řady potravin jako káva, pečivo nebo kakao. Svou roli hrají i v pivovarství, zejména během rmutování a chmelovaru, kde dokonce malé množství těchto látek vážně ovlivňuje senzorické vlastnosti konečného produktu. Hlavním zdrojem produktů Maillardovy reakce v pivovarství je slad, především speciálně připravené pražené typy. Bylo zjištěno, že melanoidiny mohou interagovat s řadou biologicky aktivních látek chmele, např. xanthohumolem, a zvyšovat tak jejich rozpustnost ve vodě. Tato práce byla zaměřena na studium struktury melanoidinů a jejich interakcí s xanthohumolem. Pro řešení této práce byly použity postupy zahrnující v sobě tlakovou ultrafiltraci, lyofilizaci, SPE izolaci s následnou UHPLC – DAD analýzou a FTIR analýzu.

Produkce, separace a biologická aktivita sekundárních metabolitů houby Monascus

Bc. Lucie Zvonařová (M2)

Školitel: Ing. Barbora Branská, Ph.D.

Monascus purpureus je vláknitá houba, která je již po staletí využívána především v asijské kuchyni při přípravě fermentovaných pokrmů. Nejznámějším z nich je červená fermentovaná rýže, která je synonymem pro přírodní léčivo a vyrábí se z ní hojné množství doplňků stravy. Tyto doplňky stravy jsou doporučovány především pro udržování a snižování hladiny cholesterolu v krvi, což se vysvětluje přítomností monakolinů, které produkuje do rýže právě houba *M. purpureus*. Monakoliny však nejsou jedinými produkovánými sekundárními metabolity této houby, mezi další potvrzené patří například žluté, červené a oranžové pigmenty, kyselina γ -aminomáselná, kyselina dimerumová a mykotoxin citrinin. V současnosti je velkou snahou z biotechnologického hlediska optimalizovat proces pro získání těchto čistých metabolitů a jejich následné uplatnění ve farmaceutickém a potravinářském průmyslu. Naše laboratorní experimenty jsou zaměřeny na 6 majoritně produkováných pigmentů z celkového počtu doposud popsáných 90 pigmentů, které houba *M. purpureus* produkuje. Naším cílem je stanovit podmínky kultivace houby *M. purpureus* při kterých tato houba produkuje zkoumané pigmenty v co největším množství. Následně tyto pigmenty separovat v čisté podobě a otestovat jejich biologickou aktivitu.

Ústav biochemie a mikrobiologie (320)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

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

Ing. Michaela Marková, Ph.D.

SEZNAM SEKČÍ

1. [Bioanalytické metody a jejich aplikace](#)
2. [Biomedicínské aplikace](#)
3. [Genetika](#)
4. [Interakce v biologických systémech](#)
5. [Mikrobiologie](#)
6. [Produkce a studium proteinů](#)
7. [Vliv malých molekul na metabolismus](#)

SPONZOŘI

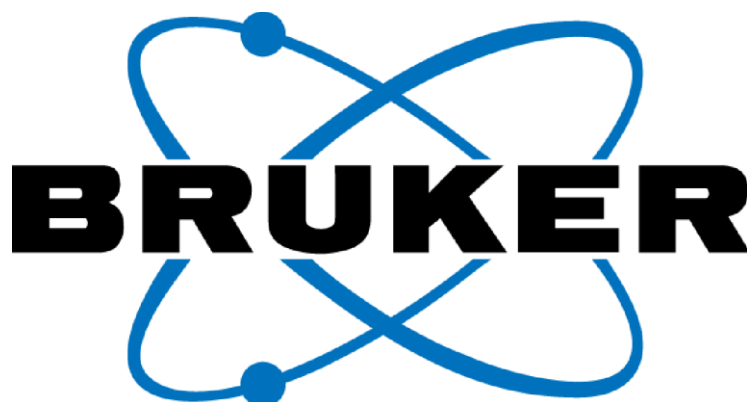


Schoeller
INSTRUMENTS



 **SHIMADZU**
Excellence in Science

 **VWR**™
part of avantor



Bioanalytické metody a jejich aplikace

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

doc. Ing. Jan Lipov, Ph.D. (předseda)

Ing. Eva Benešová, Ph.D.

Ing. Michal Strejček, Ph.D.

Ing. Barbora Svobodová, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

[Bc. Svetlana Baiandina](#) (M2, Ing. Tereza Leonhardt, Ph.D.)

Identifikace metabolitu vázajícího hliník v houbě Oidiodendron sp.

[Bc. Nikola Lisá](#) (M2, Ing. Hana Stiborová, Ph.D.)

Vyhodnocení mikrobiální kontaminace audiovizuálních materiálů kultivačními a molekulárně-biologickými technikami

[Bc. Filip Souček](#) (M2, doc. Mgr. Ing. Štěpánka Kučková, Ph.D.)

Proteomické rozlišení různých druhů rybího masa

[Bc. David Straka](#) (M2, doc. Mgr. Ing. Štěpánka Kučková, Ph.D.)

Testování vhodných podmínek přípravy zvířecí srsti pro proteomickou analýzu

[Bc. Natali Urbanová](#) (M2, Ing. Jan Vlček, Ph.D.)

Generování a detekce nízkých koncentrací toxických látek ve vzduchu

[Bc. Tereza Vodičková](#) (M2, doc. Ing. Barbora Holubová, Ph.D.)

Vývoj multianalytového rychlotestu pro detekci nových syntetických drog

[Bc. Barbora Zapletalová](#) (M2, Ing. Hana Sýkorová, Ph.D.)

Luminometr - nástroj pro posouzení míry mikrobiální kontaminace archivních fotografických materiálů?

[Bc. Dana Šídlová](#) (B1, doc. Dr. Ing. Zuzana Novotná)

Stanovení prolinu v rostlinném materiálu

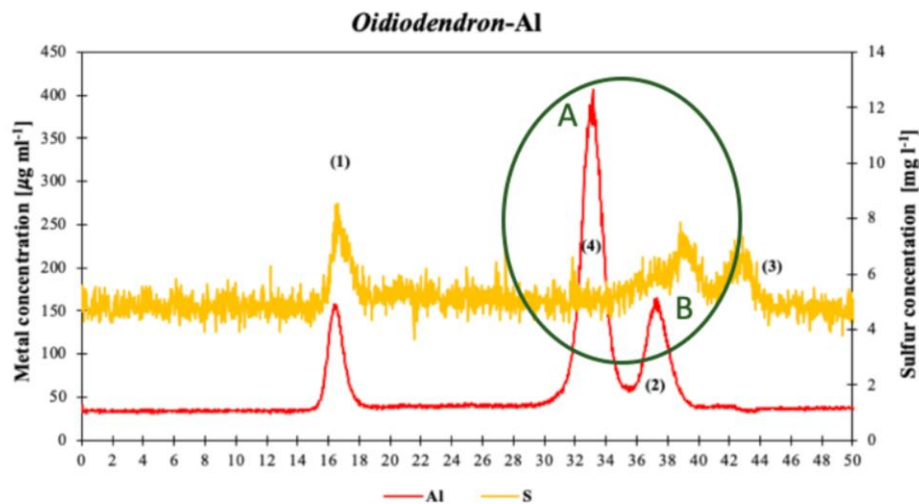
vyhlášení výsledků

Identifikace metabolitu vázajícího hliník v houbě *Oidiodendron* sp.

Bc. Svetlana Baiandina (M2)

Školitel: Ing. Tereza Leonhardt, Ph.D.

Houba *Oidiodendron* sp. je mykosymbiontem rostlin rodu *Vaccinium*. Tyto rostliny rostou na kyselých půdách nebo půdách antropologicky acidifikovaných. Tyto půdy mohou obsahovat vysoké koncentrace iontů kovů, které jsou louhovány z okolních hornin. Kationty kovů jsou následně dobře biodostupné, avšak spolu s esenciálními prvky rostlina absorbuje i abiogenní (Cd, Ni). Mykorhizní houby často akumulují kovy ve svých myceliích, čímž rostliny chrání. Je tedy možné, že houba *Oidiodendron* akumuluje Al a ukládá jej ve svém myceliu. Cílem této práce je zjistit formu ukládání Al. Bylo zjištěno, že Al je v myceliu ukládán ve dvou komplexech o velikosti 3 kDa (A) a 0,5 kDa (B), (Obr. 1). Pomocí HPLC bylo zjištěno, že molekula B by mohla být bis-glutathion a molekula A není fytochelatin. Dále plánujeme kultivovat *Oidiodendron* sp. s přidavkem vysoké dávky Al pro pozorování extra/intracelulárních depozit kovů pomocí elektronového mikroskopu s prvkovou analýzou. Po izolaci Al komplexu s neznámou molekulou A pomocí SEC plánujeme nejprve ověřit pomocí SDS-PAGE, zda se ve frakci nachází proteiny. Pokud bude potvrzena přítomnost proteinů, budou tyto dále identifikovány pomocí MS. Pokud nebude potvrzena přítomnost proteinů, budeme stanovit neznámou sloučeninu pomocí pokročilých spektrometrických metod.



Vyhodnocení mikrobiální kontaminace audiovizuálních materiálů kultivačními a molekulárně-biologickými technikami

Bc. Nikola Lisá (M2)

Školitel: Ing. Hana Stiborová, Ph.D.

Audiovizuální materiály (AVM) jakožto památky kulturního dědictví mají pro společnost z hlediska estetiky, historie i etnologie neocenitelný význam. Mohou však být kolonizovány bakteriemi, mikroskopickými houbami nebo dalšími organismy, které je znehodnocují. Cílem práce je proto srovnat diverzitu a strukturu zachycených mikroorganismů z různých typů AVM kultivačními technikami a amplikonovým sekvenováním. Vzorky z AVM byly odebrány pomocí polyuretanových stěrových houbiček ve Státním oblastním archivu v Třeboni a v Zámrsku. Stěrové houbičky byly vytřepány ve fyziologickém roztoku a část byla použita na kultivace a část na izolaci metagenomové DNA. Pro zvýšení kultivovatelnosti mikroorganismů byla využita média se sníženou koncentrací živin a přidavkem faktoru podporující resuscitaci buněk, který byl izolován ze supernatantu bakterie *Micrococcus luteus*. Získané kolonie byly identifikovány metodou MALDI-TOF MS. Z metagenomové DNA byly připraveny amplikony pro gen 16S rRNA a ITS region pomocí dvoustupňové PCR. Amplikony budou zaslány na sekvenování pomocí Illumina Miseq. Výsledky budou statisticky zpracovány a porovnány s kultivačními metodami. Identifikace přítomných mikroorganismů povede ke zvolení vhodnějších podmínek kultivace a následné ochraně AVM.

Proteomické rozlišení různých druhů rybího masa

Bc. Filip Souček (M2)

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

Rybí maso je jako zdroj bílkovin a omega-3 mastných kyselin nedílnou součástí zdravé lidské výživy. Jeho vysoká cena a poměrně velká spotřeba z něj dělají vhodný cíl pro falšovatele potravin. Jedním z nejčastějších typů falšování je druhová substituce, kdy je maso dražší ryby nahrazováno masem ryby levnější. Zhruba 16–22 % z celkového složení rybího masa tvoří proteiny. Mezi nejvýznamnější patří aktin a myosin, myoglobin, kolagen a také různé enzymy. Obsah těchto proteinů je pro každý druh ryby charakteristický. Cílem práce je rozlišení jednotlivých druhů ryb, a to na základě rozdílů v proteinovém složení jejich masa pomocí hmotnostně-spektrometrických metod. Bylo zkoumáno maso šesti druhů – tří sladkovodních (kapra obecného, pstruha duhového a štiky obecné) a tří mořských (lososa obecného, tresky pestré a makrely obecné). K rozlišení jednotlivých druhů byla využita technika MALDI-TOF s následným zpracováním metodou analýzy hlavních komponent. Metoda LC-ESI-Q-TOF umožnila identifikaci konkrétních proteinů obsažených v rybím mase. Získané výsledky ukazují, že jednotlivé druhy ryb se touto metodou daří rozlišit. Dalším cílem bude pokusit se rozlišit jednotlivé druhy i v tepelně upraveném mase a také zjistit, zdali se podaří odlišit syrové a tepelně opracované maso téhož druhu.

Testování vhodných podmínek přípravy zvířecí srsti pro proteomickou analýzu

Bc. David Straka (M2)

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

Vymáhání dodržování Úmluvy o mezinárodním obchodu s ohroženými druhy volně žijících živočichů a planě rostoucích rostlin (CITES) nebo ochrana spotřebitele při koupi různých výrobků z kožešin jsou příklady situací, které si žádají možnost objektivního odborného posouzení pravosti. V současné době se v takových případech využívá tzv. morfologické identifikace zvířecích chlupů (MIAH), která se neobejde bez světelného a skenovacího elektronového mikroskopu, ale především bez zkušeností znalce. Další možností může být, vyjma analýzy mitochondriální DNA, analýza proteinového složení. Proteomický přístup s výhodou cílí především na odolné keratiny, které buňkám zvířecí srsti dominují. Protože existuje celá řada subtypů tohoto proteinu, které se navzájem liší svými aminokyselinovými sekvencemi, můžeme díky tomu srst různých zvířecích druhů vzájemně rozlišit. V této práci se zaměřujeme na vhodnou přípravu srsti vybraných druhů zvířat (rozmělnění vzorku, odstranění lipidového filmu z povrchu chlupů a extrakce proteinů) pro analýzu pomocí techniky MALDI-TOF MS s následným zpracováním analýzou hlavních komponent. Pro jednoznačnější rozlišení zvířecí srsti je využívána technika LC-ESI-Q-TOF v kombinaci s lineární diskriminační analýzou.

Generování a detekce nízkých koncentrací toxických látek ve vzduchu

Bc. Natali Urbanová (M2)

Školitel: Ing. Jan Vlček, Ph.D.

Proces přípravy plyných standardních směsí je mnohem komplikovanější ve srovnání s přípravami kapalných nebo pevných standardů. Stupeň obtížnosti se zvyšuje se snižující se koncentrací analytu v připravované plyné směsi, obzvláště v řádech koncentrací ppb a ppt a níže. Dále je generování standardních směsí obsahující stopové koncentrace analytů spojeno s mnoha technickými a procedurálními komplikacemi, kde mezi nejvýznamnější patří například adsorpce a desorpce analytů na/ze stěn kontejnerů, nádob a potrubí; změna složení směsi v důsledku přítomnosti kontaminantů z nádob; problémy související se získáním a udržováním úplné homogenity směsi a tím i nebezpečí stratifikace plyné směsi a mnohé další. V rámci této práce se zaměřuji převážně na metody permeační a jejich parametry pro přípravu sub-ppm koncentrací plyných směsí obsahující organické látky (alkoholy, aldehydy aj.). Permeační technika poskytuje průtok analytu řádově v jednotkách ng/min. Plyné vzorky připravené permeací se porovnávají v rámci práce se vzorky připravenými statickými metodami – důležitým parametrem zde je jejich stabilita v plyné směsi v závislosti na čase.

Vývoj multianalytového rychlotestu pro detekci nových syntetických drog

Bc. Tereza Vodičková (M2)

Školitel: doc. Ing. Barbora Holubová, Ph.D.

V oblasti omamných a psychotropních látek je v dnešní době velkým problémem produkce nových syntetických drog (NPS). Tyto látky, vyráběné jako strukturní analoga již známých a nelegálních drog, nejsou explicitně kontrolovány a jejich výrobci tak obcházejí stávající legislativu. Nákup NPS je snadnější z důvodu jejich nižší ceny, snazší dostupnosti a zdánlivé bezpečnosti vycházející z jejich legálního statutu. Rizikem při jejich užívání je málo známý účinek na lidský organismus. Rychlý vývoj těchto látek musí být tedy následován vývojem metod pro jejich detekci a následnou analýzu. Je třeba vyvíjet metody, které by NPS detekovaly snadno, rychle, levně, spolehlivě a byly použitelné i v terénu. Cílem této práce je sestavení multianalytového imunochromatografického testu v uzavřeném formátu pro detekci látek ze tří různých skupin NPS – syntetických kanabinoidů (zástupcem je JWH-200) fenethylaminů (2C-B) a tryptaminů (diisopropyltryptamin). Na otevřeném formátu testů byla ověřena funkčnost skupinově specifických polyklonálních králičích protilátek proti daným drogám, stanoveny vizuální detekční limity a následně sestaven multianalytový test v otevřeném formátu. Dále bude test převeden do uzavřeného formátu a ověřena specifita daných protilátek pomocí křížových interakcí.

Luminometr - nástroj pro posouzení míry mikrobiální kontaminace archivních fotografických materiálů?

Bc. Barbora Zapletalová (M2)

Školitel: Ing. Hana Sýkorová, Ph.D.

Mikrobiální kontaminace archivních fotografických materiálů je problém, který je třeba řešit kvůli jejich historické hodnotě, a také z důvodu bezpečnosti práce lidí, kteří s těmito materiály manipulují. Pokud dojde k mikrobiální kontaminaci, fotografické materiály jsou nevratně poškozeny – mechanickým tlakem prorůstajícího mycelia plísní, enzymatickou degradací složek světlocitlivé vrstvy (želatina, albumin) či produkcí pigmentů. Každý živý organismus (včetně plísní a bakterií) produkuje ve svém metabolickém cyklu molekuly ATP (adenosin-5'-trifosfát). ATP je cyklická organická sloučenina, v jejíchž vazbách je uložena energie pro organismus. Tuto energii lze uvolnit odštěpením fosfátových skupin z molekul ATP, čehož se využívá v bioluminiscenčních metodách. V přítomnosti ATP se reakcí mezi substrátem (luciferin) a enzymem (luciferáza) uvolní určitá intenzita světla, která je úměrná množství žijících mikroorganismů (je tedy úměrná míře mikrobiální kontaminace). K měření luminiscence a její intenzity se používá luminometr, což je malý přenosný spektrometr. Tento přístroj se používá především k rychlému potvrzení či vyvrácení přítomnosti mikroorganismů v potravinářství. Cílem této práce je zhodnotit, zda by se tato metoda dala využít i pro preventivní péči o archivní materiály.

Stanovení prolinu v rostlinném materiálu

Bc. Dana Šídlová (B1)

Školitel: doc. Dr. Ing. Zuzana Novotná

Prolin (Pro, P) jako jediná proteinogenní aminokyselina nemá primární aminoskupinu, je tedy jedinečný svojí strukturou a v organismu plní velmi rozmanité funkce, např. má zásadní význam v reakci rostliny na abiotický stres související s osmotickým přizpůsobením. V této práci byly studovány dvě spektrofotometrické metody stanovení prolinu – metoda využívající reakci s ninhydrinem a metoda využívající reakci katalyzovanou rekombinantně připraveným enzymem 1-pyrrolin-5-karboxylátreduktasou. Stanovení prolinu pomocí reakce s ninhydrinem je založeno na vysoce specifické reakci, kdy při teplotě blízké se 100 °C ninhydrin reaguje pouze s prolinem za tvorby červeného produktu, jehož absorbance je měřena při 520 nm. Principem stanovení prolinu pomocí reakce s 1-pyrrolin-5-karboxylátreduktasou je měření nárůstu absorbance produktu reakce (NADH) při 340 nm. Cílem práce bylo také připravit rekombinantní 1-pyrrolin-5-karboxylátreduktasu. K její produkci byl použit kmen BL21 bakterie *Escherichia coli*. Enzym byl dále izolován a purifikován za využití chelatační afinitní chromatografie a jeho přítomnost ověřena pomocí Western blotu. Byl rovněž navržen model prostorové struktury 1-pyrrolin-5-karboxylátreduktasy v *Arabidopsis thaliana* za využití programu Modeller.

Biomedicínské aplikace

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

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

Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

Ing. Jana Kadavá

Ing. Petr Svoboda, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

[Bc. Kateřina Bašusová](#) (M1, Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.)

Fluorescenční deriváty Taxolu pro využití v teranostice: Jejich antiproliferační účinky a zobrazování v nádorových buňkách

[Bc. Kateřina Kuglerová](#) (M2, doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.)

Úloha laktátu v prevenci a patogenezi obezity

[Zdeněk Míchal](#) (B3, Ing. Eva Jablonská, Ph.D.)

Testování lysmeralu in vitro – toxicita a endokrinní disrupce

[Bc. Anna Petrová](#) (M2, prof. RNDr. Milan Kodíček, CSc.)

Hledání metody pro stanovení vybraných adenosinfosfátů a koenzymů oxidoreduktas v plasmě leukemických pacientů

[Bc. Jana Psotová](#) (M2, Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.)

Antiproliferační aktivita fluorescenčních derivátů digitoxigeninu pro teranostiku

[Bc. Ondřej Strnad](#) (M2, prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.)

Příprava a testování liposomových nosičů cílených na nádorové buňky

[Bc. Jan Vaňous](#) (M2, Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.)

Fluorescenční značení a zobrazování povrchových proteinů v živých buňkách

[Bc. Adéla Vávrová](#) (M2, prof. RNDr. Milan Kodíček, CSc.)

Analýza dysregulace signálních drah u dětské T-buněčné akutní lymfoblastické leukemie

vyhlášení výsledků

Fluorescenční deriváty Taxolu pro využití v teranostice: Jejich antiproliferační účinky a zobrazování v nádorových buňkách

Bc. Kateřina Bašusová (M1)

Školitel: Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.

Taxol je látka přírodního původu stabilizující mikrotubuly dělicího vřeténka, čímž zastavuje mitotického dělení. I přesto, že se Taxol běžně využívá v klinické praxi pro léčbu nádorových onemocnění, je spojen s řadou nežádoucích účinků způsobených především nízkou selektivitou k nádorovým buňkám. Proto v současné době probíhá vývoj selektivnějších derivátů Taxolu. V této práci byly studovány tři konjugáty Taxolu s fluorofory BODIPY lišící se v poloze a typu substituentu na BODIPY. Byla stanovena jejich cytotoxicita v nádorových (U-2 OS) a nenádorových (MRC-5) buňkách. Fluorescenční mikroskopii byl studován vstup látek do buněk, lokalizace a vliv na stabilizaci mikrotubul. Konjugát Taxolu s BODIPY substituovaném v poloze C-8 dosáhl v buňkách U-2 OS po 48 a 72 h IC_{50} v $mmol \cdot L^{-1}$ koncentracích, Taxol v $nmol \cdot L^{-1}$ koncentracích. Konjugát Taxolu s BODIPY nepůsobil toxicky na buňky MRC-5 a vykazoval tak selektivitu pro nádorové buňky. Pro mateřskou látku, Taxol, se toto nepotvrdilo. Všechny studované látky vstupovaly do buněk U-2 OS a MCF-7 a akumulovaly se v nich již od $0,2 mmol \cdot L^{-1}$ koncentrace po 10 min. inkubaci. Mikrotubuly stabilizoval pouze konjugát Taxolu s BODIPY substituovaném v poloze C-8 a Taxol. Výsledky poukazují na vysoký potenciál tohoto derivátu, a proto bude dále zkoumán.

Úloha laktátu v prevenci a patogenezi obezity

Bc. Kateřina Kuglerová (M2)

Školitel: doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.

Obezita je civilizační onemocnění, které je celosvětově rozšířené. Během tohoto stavu dochází nejen k nadměrnému ukládání tukové tkáně v organismu, ale i ke změnám v buněčné signalizaci. Pacienti trpící obezitou mají sníženou antioxidační obranu a zvýšenou hladinu reaktivních kyslíkových sloučenin (ROS). Výzkumy posledních let ukazují, že významnou signální molekulou tukové tkáně je i metabolit laktát. Kromě signalizace přes receptor GPR81 ovlivňuje též hladiny ROS a antioxidační odpověď. Tato práce se zaměřuje na studium účinku perorálního podávání laktátu na tukovou tkáň obézních zvířat. Laktát byl myším podáván ve formě oligolaktidu s převahou heptameru (LA7), jelikož v této formě méně zatěžuje trávicí trakt. LA7 slouží jako dopravní molekula, která se v organismu vlivem pankreatických enzymů štěpí na jednotlivé molekuly laktátu. Měření bylo provedeno pomocí qRT-PCR na myší tukové a jaterní tkáni, kde bylo zkoumáno ovlivnění exprese genů důležitých pro lipogenezi a antioxidační odpověď. Přestože v samotném zvířecím experimentu bylo nalezeno příznivé ovlivnění obézního fenotypu, naše práce zatím neposkytlá informace o mechanismu účinku LA7. V současné době probíhá další kolo experimentů a budou navrženy primery umožňující kvantifikaci exprese dalších genů.

Testování lysmeralu *in vitro* – toxicita a endokrinní disrupce

Zdeněk Míchal (B3)

Školitel: Ing. Eva Jablonská, Ph.D.

S parfémy, kosmetikou nebo čisticími prostředky se setkáváme každý den. Všechny tyto přípravky jsou složeny z velkého množství různých látek, které mohou mít negativní vliv na živé organismy včetně člověka. Jednou z častých složek v těchto přípravcích je námi testovaný lysmeral, 2-(4-*tert*-Butylbenzyl)propionaldehyd. Jde o synteticky připravenou látku s květinovou vůní. Pro ni je lysmeral využíván v kosmetických a čisticích přípravcích, ale jeho možné nežádoucí působení na hormonální systém nebylo dosud testováno. *In vitro* testováním jsme určovali toxicitu této látky a zjišťovali, zda má schopnost endokrinní disrupce. V naší práci jsme použili reportérové *in vitro* testy, jenž využívají tkáňové kultury schopné aktivace transkripce po navázání ligandu na estrogenní nebo androgenní receptor. Estrogenní aktivitu lysmeralu jsme stanovili pomocí buněčné linie HeLa-9903 získané z lidského děložního čípku a pro určení androgenní aktivity jsme použili linii MDA-kb2 z humánní prsní žlázy. Ze zjištěných dat jsme vyhodnotili, že lysmeral nemá schopnost endokrinní disrupce. Jelikož je možné, že při metabolizaci této látky dochází ke vzniku nežádoucích metabolitů, naše práce pokračuje testy endokrinní disrupce po metabolické aktivaci. Testování bude prováděno interakcí s jaterním homogenátem.

Hledání metody pro stanovení vybraných adenosinfosfátů a koenzymů oxidoreduktas v plasmě leukemických pacientů

Bc. Anna Petrová (M2)

Školitel: prof. RNDr. Milan Kodíček, CSc.

Rakovinné buňky vzniklé přeprogramováním zdravých buněk získávají výhodu dlouhého přežívání, růstu a proliferace. V mikroprostředí solidních nádorů a v mikroprostředí kostní dřeně při akutní myeloidní leukemii je výrazně zvýšené množství ATP. Je otázkou, jestli je tomu tak i v plasmě u leukemických pacientů. Rakovinné buňky mají zvýšenou aktivitu enzymů v pentosofosfátovém cyklu, která vede ke zvýšené produkci NADPH, který slouží k biosyntéze a k ochraně před oxidačním stresem. Cílem práce bylo najít vhodnou metodu pro stanovení ATP, ADP, AMP, NAD(H) a NADP(H) - potencionálních rakovinných markerů. Na kapalinové chromatografii s UV detekcí byla vyzkoušena jedna kolona, a to Kromasil Eternity-C18 s reverzní fází s přídavkem iontově párového činidla (tetrabutylamoniumhydrosulfátu) v mobilní fázi. Na LC-MS byly vyzkoušeny 4 chromatografické kolony na reverzní fázi a 3 kolony na bázi HILIC. Nejlepší rozdělení zvolených analytů poskytla kolona Luna NH2 na bázi HILIC. Dosavadní chromatogramy byly získány ze standardů rozpuštěných v pufru (LC-MS) a ve vodě (HPLC s UV detekcí). Následně budou analyty stanovovány z plasmy zdravých jedinců a leukemických pacientů.

Antiproliferační aktivita fluorescenčních derivátů digitoxigeninu pro teranostiku

Bc. Jana Psotová (M2)

Školitel: Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.

Digitoxigenin (DgG) je aglykonem kardioglykosidu digitoxinu, který se již po staletí využívá v léčbě srdečního selhání. Později bylo zjištěno, že digitoxin i jeho aglykon vykazují značný protinádorový účinek a jsou schopné vyvolat programovanou buněčnou smrt. Proto je tato práce zaměřena na fluorescenční deriváty DgG, které by mohly nalézt uplatnění v teranostice nádorových onemocnění. Studovali jsme sedm fluorescenčních derivátů DgG s odlišnou emisí fluorescence. Nejprve byla pomocí molekulového dokování porovnána síla interakcí DgG a jeho derivátů se sodno-draselnou ATPasou (NKA), která hraje hlavní roli v účinku kardioglykosidů. Dále byla stanovena cytotoxicita a intracelulární lokalizace studovaných látek v nádorových a nenádorových plicních buňkách. Pro přiblížení působení těchto látek na nádor byla sledována změna velikosti a integrity 3D sféroidů vytvořených z buněk karcinomu plic. Téměř všechny deriváty se do vazebného místa NKA dokovaly podobně jako DgG. Fluorescenční mikroskopií byla zjištěna lokalizace derivátů v endoplasmatickém retikulu a lysozomech buněk karcinomu plic. Tři deriváty vykazovaly podobnou cytotoxicitu vůči nádorovým buňkám jako DgG. Dosavadní výsledky poukazují na vysoký potenciál tří ze studovaných derivátů DgG, proto budou dále podrobněji zkoumány.

Příprava a testování liposomových nosičů cílených na nádorové buňky

Bc. Ondřej Strnad (M2)

Školitel: prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.

Během dlouhodobé léčby rakoviny chemoterapeutiky častokrát dochází ke vzniku rezistence, a tím snížení šance na úspěšné vyléčení. Mnohočetnou lékovou rezistenci (MDR) mohou způsobovat efluxní pumpy z rodiny ABC proteinů (z angl. ATP binding cassette). Jedním z nejčastěji nadměrně exprimovaných transportérů bývá P-glykoprotein (P-gp). Většina P-gp modulátorů se nedá podávat systémově, protože se P-gp přirozeně vyskytuje i v jiných tkáních a orgánech (např. hematoencefalitické bariéry), kde má ochrannou funkci. Proto je nutné využít systém, který by modulátory cíleně dopravil k nádorovým buňkám, a tím snížil jejich vedlejší účinky. Cílem této práce je vytvoření aktivně cíleného systému obsahující modulátor P-glykoproteinu. Pro tyto účely budou využity liposomy nesoucí monoklonální protilátky proti humánnímu epidermálnímu receptoru 2 (Her2) k cílení lidské vaječnickové nádorové linie (HOC) nadprodukující tento receptor. V rámci testování byla stanovena aktivita samotného modulátoru, který vykazuje vysokou schopnost modulovat rezistenci u doxorubicin rezistentního karcinomu vaječníku (HOC/ADR) v širokém koncentračním rozsahu. Po přípravě transportního systému bude stanovena senzitivizace rezistentní vaječnickové sublinie a porovnána míra modulace a selektivita vůči Her2 pozitivním buňkám.

Fluorescenční značení a zobrazování povrchových proteinů v živých buňkách

Bc. Jan Vaňous (M2)

Školitel: Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.

Nedílnou součástí moderních molekulárně-biologických disciplín jsou studie povrchových proteinů a jejich interakcí v reálném čase. Základem takových studií je vhodné značení proteinu umožňující sledovat např. lokalizaci proteinu nebo děje, jakých se účastní. Jednou z možností značení proteinů je využití fluorescenčních značek, které je možné sledovat fluorescenční mikroskopií. K nejefektivnějším typům fluorescenčního značení povrchových proteinů v živých buňkách patří značení pomocí biotinylace. V této práci byly proto připraveny značky na bázi biotinu a monovalentního streptavidinu. Pro zprostředkování vazby biotinu na studovaný protein a streptavidin byla připravena rekombinantní biotin-protein ligasa BirA. Tento enzym váže jak aktivní, tak neaktivní streptavidin, z nichž se dále skládá tetramer monovalentního streptavidinu obsahující jednu aktivní biotin-vázající část a tři neaktivní části. Na monovalentní streptavidin je následně připojen fluorofor, který lze sledovat fluorescenčním mikroskopem. Pro studium značeného proteinu v savčích buňkách bude dále připravena plasmidová DNA kódující sledovaný protein s vazbou na biotin a streptavidin. Následně budou optimalizovány experimentální podmínky pro zobrazení značeného proteinu fluorescenční mikroskopií.

Analýza dysregulace signálních drah u dětské T-buněčné akutní lymfoblastické leukemie

Bc. Adéla Vávrová (M2)

Školitel: prof. RNDr. Milan Kodíček, CSc.

Akutní lymfoblastická leukemie (ALL) je nejčastějším nádorovým onemocněním u dětí do 19 let. Přibližně 15 % všech dětských pacientů s ALL trpí konkrétně T-buněčnou ALL. Jedná se o heterogenní onemocnění způsobené celou řadou genetických mutací, epigenetických změn a faktorů prostředí. Úspěšnost vyléčení dětských pacientů s ALL překračuje 80 %, nicméně u cca 20-30 % pacientů dochází k relapsu onemocnění, který je spojen s velmi špatnou prognózou. Rozdílná reakce na léčbu je mimo jiné způsobená rozdílnou aktivitou jednotlivých signálních drah u daného jedince, jejichž vzájemná výlučnost byla již dříve popsána (Kuzilková et al., Haematologica, 2021). Cílem této práce je prostřednictvím vhodných protilátek detailně analyzovat signální dráhy T-lymfoblastů se zaměřením na změny produkce a/nebo aktivity proteinů těchto drah, ke kterým dochází v časně fázi léčby pacientů. V tuto chvíli je ukončeno testování panelu 41 monoklonálních protilátek na modelových vzorcích buněčných linií. Pomocí protilátek budou následně metodou hmotnostní cytometrie analyzovány vzorky dětských pacientů s T-buněčnou ALL, které budou odebrány ve třech časových bodech (den zahájení léčby, den 8, den 15).

Genetika

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

doc. Dr. Ing. Zuzana Novotná (předseda)

Ing. Tomáš Podzimek, Ph.D.

PharmDr. Jindřiška Angelini, Ph.D.

Ing. Blanka Vrchotová, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

[Bc. Kateřina Hanáková](#) (M2, Ing. Sabina Purkrťová, Ph.D.)

Validace qPCR protokolů pro kvantifikaci genů kódujících rezistenci k antibiotikům

[Bc. Martina Jeřábková](#) (M2, Ing. Michal Strejček, Ph.D.)

*Zpracování genomu environmentálního bakteriálního izolátu 17/6
sekvenovaného pomocí nanopórové technologie*

[Bc. Ondřej Laniak](#) (M2, Ing. Eva Jablonská, Ph.D.)

Využití dPCR pro kvantifikaci DNA z papírových dokumentů

[Bc. Veronika Liščáková](#) (M2, Ing. Jan Sácký, Ph.D.)

*Identifikace a charakterizace genů kódujících proteinové transportéry kadmia a
zinku v *Agaricus crocodilinus**

[Bc. Denisa Nováková](#) (M2, Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.)

*Identifikace štiky obecné (*Esox lucius*) pomocí LAMP*

[Bc. Gabriela Pelešková](#) (M2, Ing. Jan Sácký, Ph.D.)

Identifikace genů zodpovědných za metylaci arsenu u vyšších hub

[Bc. Anna Shánělová](#) (M2, doc. Ing. Jan Lipov, Ph.D.)

DNA profilování latentních stop na papírových dokumentech

[Bc. Jan Šnábl](#) (M2, Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.)

Skupinová a druhová identifikace zástupců z čeledi Salmonidae s využitím parvalbuminového genu

vyhlášení výsledků

Validace qPCR protokolů pro kvantifikaci genů kódujících rezistenci k antibiotikům

Bc. Kateřina Hanáková (M2)

Školitel: Ing. Sabina Purkrťová, Ph.D.

Validace qPCR protokolů pro kvantifikaci genů kódujících rezistenci k antibiotikům Bc. Kateřina Hanáková Školitel: Ing. Sabina Purkrťová, Ph.D. Antibiotika jsou zásadními látkami pro léčbu bakteriálních infekcí. Bakterie jsou však schopny si vůči nim vyvinout obranné mechanismy rezistence, což následně způsobuje zhoršení léčby i banálních bakteriálních infekcí. Geny rezistence k antibiotikům (ARG), kódující tyto mechanismy, jsou součástí nejen chromozomů, ale zvláště mobilních genetických elementů. Cílem této práce je zavedení a validace qPCR protokolů pro absolutní i relativní kvantifikaci vybraných ARG. V rámci testování jsou použity vzorky DNA izolované z různých částí ČOV (anaerobní a aktivovaný kal, odpadní voda) v rámci kruhového testu v projektu REPARES (H2020-EU.4.b. ID 857552). Cílem práce je zjistit vliv jednotlivých faktorů (vliv přístroje, teploty nasedání, metody měření koncentrací atd.) qPCR protokolů na absolutní qPCR kvantifikaci počtu kopií vybraných ARG pomocí gBlock™ (až 3000 párů bazí dlouhé fragmenty dsDNA externě dodávané) s cílem zavést spolehlivý a validovaný protokol. Byly testovány qPCR protokoly pro absolutní kvantifikaci ARG *tetO* (rezistence k tetracyklinu), *sul1* (rezistence k sulfonamidům), genu pro integrázu (*int1*) a referenčního genu pro 16S rRNA.

Zpracování genomu environmentálního bakteriálního izolátu 17/6 sekvenovaného pomocí nanopórové technologie

Bc. Martina Jeřábková (M2)

Školitel: Ing. Michal Strejček, Ph.D.

Nanopórová technologie sekvenace DNA je řazena mezi metody dlouhého čtení, což představuje výhodu zejména z hlediska jednoduššího skládání fragmentů DNA do delších celků. Ve srovnání s metodami krátkého čtení jsou totiž u této sekvenační technologie fragmenty obvykle 100krát delší. To se ovšem děje na úkor nižší přesnosti v detekci jednotlivých bází. Chyby jsou zde zejména v podobě inzercí a delecí (indelů) vznikajících v místech homopolymerních sekvencí. Ty pak ve výsledném genomu způsobují posun čtecího rámce, inserce stop-kodonu do kódující sekvence, nebo naopak jeho zrušení, což dává vzniknout tzv. pseudogenům. Počet těchto pseudogenů je možné snížit díky polishingu za využití softwarů umožňujících najít a opravit sekvenační chyby. Cílem této práce je nalézt takovou kombinaci bioinformatických nástrojů umožňujících assembly (Canu, Flye) a polishing (Medaka, Racon), aby se počet pseudogenů co nejvíce snížil, tedy aby se zvýšila kvalita výsledného genomu. K monitoringu počtu pseudogenů (před i po průběhu polishingu) byl používán PGAP – anotační software od NCBI.

Využití dPCR pro kvantifikaci DNA z papírových dokumentů

Bc. Ondřej Laniak (M2)

Školitel: Ing. Eva Jablonská, Ph.D.

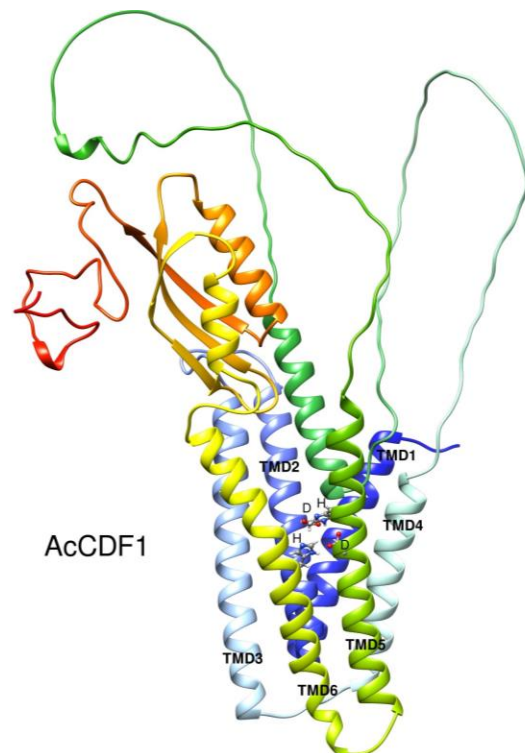
Práce se zabývá problematikou izolace DNA z papírových dokumentů, zejména izolace z oblasti podpisových řádků. V této oblasti se většina populace při podpisu opírá malíkovou hranou dlaně, je tedy vysoká pravděpodobnost, že na papíře zůstanou biologické stopy signatáře. Cílem práce je prokázat přítomnost těchto stop a kvantifikovat množství izolované DNA. Izolaci provádíme pomocí komerční soupravy Casework Direct System. Tato souprava minimalizuje ztráty, jelikož se vzorek nepromývá. Je proto vhodná pro vzorky s nízkou koncentrací DNA. Izolovanou DNA následně kvantifikujeme pomocí dPCR. Pro srovnání a verifikaci získaného výsledku izoláty kvantifikujeme také prostřednictvím qPCR s využitím soupravy Plexor HY System. Následně jsme se z izolátů pomocí soupravy PowerPlex Fusion 6C Systém pokusili získat STR profil. Průběžné výsledky poukazují na problémy při izolaci, jelikož se nám prozatím nepodařilo úspěšně kvantifikovat množství získané DNA, ani získat kvalitní STR profil. Z vyzkoušených metod izolace se zatím ukázalo, že při navlhčení papíru jsme schopni získat větší množství DNA. Výsledkem této práce bude sestavení postupu izolace pro dosažení nejvyššího možného výtěžku a porovnání dPCR a qPCR metod.

Identifikace a charakterizace genů kódující proteinové transportéry kadmia a zinku v *Agaricus crocodilinus*

Bc. Veronika Liščáková (M2)

Školitel: Ing. Jan Sácký, Ph.D.

O vyšších houbách je známo, že jsou schopny akumulovat ve svých plodnicích vysoké koncentrace těžkých kovů. Hyperakumulace kadmia (Cd) však byla doposud popsána pouze u dvou druhů saprotrfních hub *Cystoderma carcharias* a *Agaricus crocodilinus*. Cílem této práce bylo zjistit genetické a biologické aspekty vedoucí u houby *A. crocodilinus* ke schopnosti hyperakumulace Cd. Zaměřili jsme se na identifikaci a charakterizaci genů CDF (z *angl.* *Cation Diffusion Facilitator*) proteinových transportérů, které jsou zodpovědné za transport dvoumocných iontů kovů. Byly získány nukleotidové sekvence dvou transportérů označené AcCDF1 a AcCDF2. Fylogenetická analýza umístila AcCDF1 do zinkového CDF klastru, zatímco AcCDF2 byl zařazen do zcela nové, zatím nedefinované skupiny CDF transportérů. Pomocí softwaru využívající neuronovou síť AlphaFold byly predikovány jejich trojrozměrné struktury a určeny aminokyselinové zbytky zodpovědné za transport kovu. V mutantních kmenech *Saccharomyces cerevisiae* byla u AcCDF1 zjištěna jeho substrátová specifita a díky fúzi se zeleným fluorescenčním proteinem určena také jeho lokalizace. Ze znalosti struktury AcCDF1 se dále pokusíme řízenou mutagenézí změnit jeho specifitu. Získané poznatky mohou být v budoucnu využity při potenciálních bioremediačních procesech.



Identifikace štiky obecné (*Esox lucius*) pomocí LAMP

Bc. Denisa Nováková (M2)

Školitel: Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

Alergie na ryby patří mezi nejčastěji se vyskytující potravinové alergie. Hlavní alergen rybího masa je svalový protein parvalbumin. Ten může být použit jako identifikační marker nejen pro analýzu syrových ryb, díky jeho odolnosti rovněž i pro analýzy zpracovaných a tepelně upravených rybích výrobků. Toho může být využito při průkazu falšování rybích produktů, které jsou jednou z nejčastěji falšovaných komodit díky své oblíbenosti mezi konzumenty. Aby nedocházelo ke klamání spotřebitelů, ale i ohrožování jejich zdraví, je zapotřebí navrhnout rychlé a specifické metody pro druhovou identifikaci ryb. Cílem této práce bylo navrhnout protokol pro izotermickou amplifikaci DNA štiky obecné (*Esox lucius*) s využitím metody LAMP (z angl. Loop-mediated isothermal amplification). Za tímto účelem byly navrženy specifické primery v oblasti intronu parvalbuminového genu. Metoda byla zkoušena za použití různých reakčních mixů a byla provedena optimalizace reakčních podmínek vhodných pro detekci štiky obecné. Po optimalizaci podmínek byla navržená metoda testována na panelu 13 druhů ryb. Práce byla finančně podpořena z grantu MZe (NAZV) QK1910231.

Identifikace genů zodpovědných za metylaci arsenu u vyšších hub

Bc. Gabriela Pelešková (M2)

Školitel: Ing. Jan Sácký, Ph.D.

Arsen (As) je polokovový prvek, na který si organismy z důvodu jeho toxicity a toxicity jeho sloučenin musely vytvořit speciální metabolické dráhy pro jeho detoxifikaci. Jednou z takových drah je metylace As, která byla popsána napříč všemi říšemi. U vyšších hub však zůstává tento jev stále neprozkoumán, ačkoliv přítomnost methylovaných sloučenin As byla již u vyšších hub potvrzena. Doposud není stále objasněno, zda metylaci provádí houba samotná, nebo zda jí tuto funkci zajišťují symbiotické bakterie. Bylo zjištěno, že potřebné geny pro metylaci As se pravděpodobně rozšířily mezi ostatní organismy horizontálním přenosem genů z bakterií, u kterých bývají tyto geny často seskupeny v takzvaném ars operonu. Je tedy možné předpokládat, že i u vyšších hub by se mohlo jednat o podobný fenomén. Ze dvou druhů rodu *Hebeloma* se podařilo získat částečné sekvence arsen methyltransferasy a transportéru As ACR3 ležících na rozdílných lokusech. Následně byla zkonstruována tzv. „GenomeWalking“ knihovna, která umožňuje bez znalosti genomu daného organismu určit sekvenci DNA celého genu a jeho okolí. V následujícím postupu budou provedeny funkční studie těchto genů v *Saccharomyces cerevisiae* a v případě transportéru ACR3 bude ve fúzi se zeleným fluorescenčním proteinem určena jeho lokalizace.

DNA profilování latentních stop na papírových dokumentech

Bc. Anna Shánělová (M2)

Školitel: doc. Ing. Jan Lipov, Ph.D.

Identifikace osob na základě profilování krátkých tandemových repetitivních sekvencí (STR) se v kriminalistické praxi používá již řadu let. Při podpisu papírového dokumentu se většina osob opírá o malíkovou hranu dlaně a zanechává tak na papíru kožní buňky. Cílem této práce je ověřit hypotézu, že je možno z oblasti podpisového řádku papírového nosiče získat dostatečné množství DNA pro STR profilování. K izolaci byla použita komerční souprava Casework Direct System, která je určena pro vzorky s minimálním množstvím DNA, následná multiplex amplifikace byla provedena pomocí soupravy PowerPlex® Fusion 6C System. Fragmentační analýza byla realizována přístrojem SeqStudio, vyhodnocení pomocí software GeneMapper ID-X.

Skupinová a druhová identifikace zástupců z čeledi *Salmonidae* s využitím parvalbuminového genu

Bc. Jan Šnábl (M2)

Školitel: Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

Ryby z čeledi lososovití (*Salmonidae*) a jejich produkty představují stěžejní pilíř v oblasti potravinářství. V současném globálním světě je vytvářen enormní tlak ze strany poptávky na tuto čeleď ryb. S tímto zvětšujícím se trendem dochází k nárůstu případů falšování či nesprávného označení jednotlivých druhů ryb z čeledi *Salmonidae*. Z této tendence vyplývá, že simultánně přibývají případy nežádoucích otrav a alergických reakcí vůči parvalbuminu po požití chybně označeného jedince. Toto jsou pádné důvody pro vytvoření vhodných metodik a nástrojů sloužících ke skupinové identifikaci, potažmo druhové identifikaci. Cílem této práce byl návrh vhodných primerů pro identifikaci vybraných zástupců z čeledi *Salmonidae*. K testování účinnosti navržených primerů byla využita kvantitativní polymerázová řetězová reakce (qPCR). Jako oblast identifikace byla zvolena intronová část parvalbuminového genu, především se jedná o první a druhý intron. Součástí experimentální části byla též izolace DNA a měření kvality izolace DNA pomocí spektrofotometru. Navazujícím cílem jest návrh a testování vhodně značené sondy pro vybrané zástupce ryb z čeledi *Salmonidae*, konkrétně lososa obecného (*Salmo salar*) a pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*). Práce byla finančně podpořena z grantu MZe (NAZV) QK1910231.

Interakce v biologických systémech

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D. (předseda)

Ing. Hana Sýkorová, Ph.D.

Ing. Hana Michová, Ph.D.

Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

[Bc. Jan Beránek](#) (M2, doc. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.)

Tvorba komplexu HEV32 s oligosacharidy studovaná pomocí simulačních metod zlepšujících vzorkování

[Bc. Veronika Ferinová](#) (M2, doc. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.)

Interakce signálního peptidu a částice rozpoznávající signál studovaná prostřednictvím simulace molekulové dynamiky

[Bc. Kristýna Kliková](#) (M2, Ing. Sabina Purkrťová, Ph.D.)

Vliv antimikrobiálních látek na transkripční profil Escherichia coli

[Bc. Michal Kuhn](#) (M2, doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.)

Vliv teplotního stresu na proteom anammox bakterie Brocadia fulgida

[Bc. Daniela Pírková](#) (M2, Ing. Tereza Leonhardt, Ph.D.)

Vazebné interakce RaZBP1 a zinku

[Bc. Veronika Tomšovská](#) (M2, Ing. Tomáš Podzimek, Ph.D.)

Transformace dvou saprotrofních hub genem pro nukleasu TBN1

[Bc. Michaela Čermáková](#) (M2, doc. Ing. Pavel Ulbrich, Ph.D.)

Virom v časných stádiích celiakie

[Bc. Karolína Štrbová](#) (M2, doc. Ing. Jan Lipov, Ph.D.)

Interakce matrixového proteinu Masonova-Pfizerova opičího viru s tRNA

vyhlášení výsledků

Tvorba komplexu HEV32 s oligosacharidy studovaná pomocí simulačních metod zlepšujících vzorkování

Bc. Jan Beránek (M2)

Školitel: doc. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.

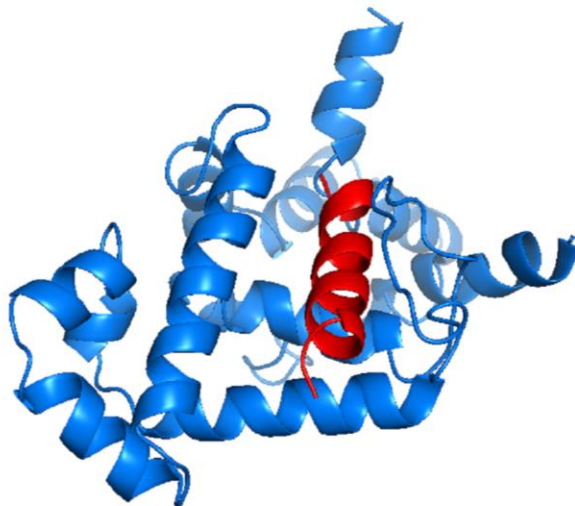
HEV32 je doména heveinu složená ze 32 aminokyselinových reziduí, schopná vytvářet komplex s chitinem. Je vhodná pro studium interakce protein-sacharid. V rámci této práce byla simulována interakce HEV32 s mono-, di- a trisacharidem odvozenými od chitinu; jako simulační metoda byla použita „nálevková“ metadynamika. Jako kolektivní proměnné, jejichž vzorkování bylo urychlováno pomocí metadynamiky, byly použity vzdálenost sacharidového ligandu od vazebného místa ve směru nálevky a proměnná vystihující konformační změny HEV32. Tato kolektivní proměnná byla získána pomocí analýzy hlavních komponent trajektorie simulace molekulové dynamiky systémů HEV32 s těmito sacharidy z práce publikované v článku Solanke et al (2019), Sci. Rep. 9, 18918. Byla provedena simulace každého ze tří popsaných systémů o délce 2 μ s. Pomocí získaných ploch volné energie byly předpovězeny vazebné Gibbsovy energie ligandů, přičemž hodnota získaná pro trisacharid, -24 kJ/mol, odpovídala reálné hodnotě. V současnosti v práci pokračuji a snažím se získat lepší kolektivní proměnné vystihující konformační změny v HEV32.

Interakce signálního peptidu a částice rozpoznávající signál studovaná prostřednictvím simulace molekulové dynamiky

Bc. Veronika Ferinová (M2)

Školitel: doc. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.

Interakce signálního peptidu s částicí rozpoznávající signál (SRP) hraje velmi důležitou roli v cílení membránových a sekretovaných proteinů na membránu endoplazmatického retikula. Signální peptid lze rozlišit na tři oblasti, kdy jedna oblast je hydrofobní. V této oblasti byly nalezeny repetice hydrofobních aminokyselin u člověka a savců. Tato práce má za úkol charakterizovat interakci signálního peptidu a SRP simulacemi molekulové dynamiky a metadynamiky. Pro studium byl vybrán receptor proteinu SRP54, a signální peptid interleukinu 17A obsahující leucinové repetice. Dalšími studovanými signálními peptidy byly dvě modifikace interleukinu 17A, kdy byl leucin nahrazen isoleucinem nebo valinem, a také ortolog s leucinovými a valinovými repeticemi. Nejdříve byly provedeny simulace molekulové dynamiky o délce 1 μ s na strukturách receptoru SRP se signálním peptidem získaných pomocí molekulového dockingu. V průběhu simulací nedošlo k rozpadu struktur. Pouze signální peptid interleukinu 17A obohacen repeticemi leucinu vytvořil strukturu α -helix. Lze tedy říci, že signální peptidy obohacené repeticemi leucinu mohou tvořit funkční signální peptid. Výsledky získané simulacemi molekulové dynamiky jsou nadále v procesu ověřování jinou metodou, konkrétně metadynamikou.



Vliv antimikrobiálních látek na transkripční profil *Escherichia coli*

Bc. Kristýna Kliková (M2)

Školitel: Ing. Sabina Purkrťová, Ph.D.

Escherichia coli je významná gramnegativní bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae*. Je běžnou součástí střevního mikrobiomu teplokrevných zvířat včetně člověka, avšak může být i oportunním patogenem. *E. coli* je schopná tvořit silnou a odolnou vrstvu biofilmu (konsorcium buněk přichycených k sobě navzájem a k povrchu pomocí extracelulární matrice rezistentní k vnějším podmínkám) na abiotických i biotických površích. Tvorba biofilmu *E. coli* je tak velmi nežádoucím dějem především v nemocnicích (nozokomiální infekce), ale i v potravinářství (křížové kontaminace ve výrobě). Cílem této práce je přispět k objasnění mechanismu působení antimikrobiálních látek na transkripci genů regulujících stresovou odpověď včetně tvorby biofilmu. Testování je prováděno u tří kmenů *E. coli* a zlatých nanočástic v subletální koncentraci. V první části práce byl testován vliv těchto AuNPs na životaschopnost a tvorbu biofilmu u planktonních buněk. Ve druhé části práce byla provedena izolace mRNA z kultur *E. coli* rostoucích v přítomnosti a nepřítomnosti AuNPs. Pro stanovení míry transkripce byly vybrány cílové geny *rpoS* a *oxyR*, jako referenční geny byly vybrány 16S rRNA a *gapA*. Pro amplifikaci těchto genů byla zavedena metoda qPCR, která bude dále využita pro relativní kvantifikaci počtu jejich kopií v cDNA.

*Vliv teplotního stresu na proteom anammox bakterie *Brocadia fulgida**

Bc. Michal Kuhn (M2)

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

Anammoxní bakterie disponují velice specifickou vnitřní strukturou zvanou anammoxosom, jež je tvořena fosfolipidovou dvojvrstvou tvořenou estery a etery ladderanů. Doposud nebylo zjištěno, jakým exaktním mechanismem jsou tyto vyšší mastné a cyklické kyseliny bakteriemi syntetizovány, ale na základě jejich vysoké spalné enthalpie mají potenciál pro využití v palivářském průmyslu; přesněji by se mohlo jednat o nové palivo pro raketové motory. Vystavení bakterií teplotnímu stresu, ve formě zvýšení teploty bioreaktoru, by mělo zvýšit produkci ladderanů. Při mé práci byla několikrát prováděna dezintegrace buněčné kultury obohacené o druh *Candidatus Brocadia fulgida* s následnou snahou o izolaci anammoxosomu pomocí sacharózové gradientové centrifugace. Výsledky byly pozorovány pomocí světelného mikroskopu a TEM. V další fázi práce bude snaha o extrakci cytosolických a transmembránových proteinů, kdy dalším krokem bude jejich identifikace pomocí hmotnostní spektroskopie (ESI-QTOF-MS). Výsledkem mé práce by mělo být nazelení enzymů, jež jsou zodpovědné za syntézu ladderanů.

Vazebné interakce RaZBP1 a zinku

Bc. Daniela Pírková (M2)

Školitel: Ing. Tereza Leonhardt, Ph.D.

Ektomykorhizní houba *Russula atropurpurea* je významným hyperakumulátorem zinku (plodnice obsahují až 1 067 mg Zn na kg sušiny). Bylo zjištěno, že peptidovými ligandy přebytku Zn v plodnicích jsou isomorfní peptidy RaZBP1 a RaZBP2. Tyto peptidy jsou schopné vázat téměř 80 % Zn extrahovaného z plodnic této houby, pravděpodobně ji chrání proti toxicitě Zn a vykazují pouze omezenou sekvenční podobnost se známými metalothioneiny vzhledem k absenci více motivů C-X-C (X je jakákoliv aminokyselina kromě prolinu). Přítomnost těchto peptidů byla později potvrzena i u dalších akumulátorů Zn z rodu *Russula*. Zdá se tedy, že druhy *Russula* akumulující Zn používají zcela specifickou strategii manipulace se Zn, odlišnou od ostatních studovaných hub. Cílem práce je ověřit vazbu Zn^{2+} na peptid RaZBP1 a určit disociační konstantu (K_d) této reakce pomocí termoforézy. Během měření bylo zjištěno, že v použitých pufrech vzniká nerozpustný $\text{Zn}(\text{OH})_2$. Naměřená hodnota K_d tak může být ovlivněna vysrážením Zn. Do budoucna se tedy plánuje nové měření v pufrech MOPSO a EPPS, ve kterých by podle dostupné literatury nemělo ke vzniku $\text{Zn}(\text{OH})_2$ docházet. Dalším cílem poté bude exprese metalothioneinů *R. atropurpurea* RaMT1 a RaMT2, změření jejich K_d pomocí termoforézy a srovnání jejich afinit k Zn s afinitou RaZBP1.

Transformace dvou saprotrfních hub genem pro nukleasu TBN1

Bc. Veronika Tomšovská (M2)

Školitel: Ing. Tomáš Podzimek, Ph.D.

Rostlinné nespecifické nukleasy, zejména z rodiny *nukleasa I*, mají potenciál jako protinádorová terapeutika. Patří mezi ně i nukleasa TBN1 z rajčete jedlého, u které byl prokázán antiproliferační účinek na kožní melanom a karcinom prostaty při laboratorních testech na myších. Zároveň u ní byly zjištěny nižší nežádoucí účinky než u ostatních zkoumaných rostlinných nukleas. Problém nukleasy TBN1 je s jejím nízkým výtěžkem při produkci v rostlinách a vyšší houby, jako eukaryotické organismy, by mohly být vhodným produkčním systémem. Proto je tato práce zaměřena na transformaci saprotrfní houby *Polyporus ciliatus* genem pro TBN1 pomocí bakterie *Agrobacterium tumefaciens*. Zároveň je cílem této práce potvrdit přítomnost genu pro nukleasu TBN1 v již potenciálně transformované houbě *Coprinellus bisporus*. Pro optimalizaci procesu transformace houby *P. ciliatus* byla zjištěna vhodná koncentrace acetosyringonu a pro úspěšnou selekci pozitivních transformantů byly zjištěny vhodné koncentrace antibiotik hygromycinu, cefotaximu a carbenicillinu. Druhý z probíhajících experimentů, tedy potvrzení přítomnosti genu pro nukleasu TBN1 v již potenciálně transformované houbě *C. bisporus*, byl započat odstraňováním přebytečné bakterie *A. tumefaciens*, která po transformaci kontaminuje houbové mycelium.

Virom v časných stádiích celiakie

Bc. Michaela Čermáková (M2)

Školitel: doc. Ing. Pavel Ulbrich, Ph.D.

Celiakie je imunopatologické onemocnění s dlouhou asymptomatickou periodou (obdobím, kdy je detekovatelné zejména imunologickými markery), s jehož prvními projevy se setkáváme zejména v dětském věku. Celiakie vzniká v důsledku expozice glutenu z potravy u jedinců s genetickými predispozicemi (především jsou to geny kódující HLA-DQ2 a HLA-DQ8). Jedinců s tímto genetickým rizikem, kteří neomezeně konzumují gluten bez jakýchkoli komplikací, je řádově více než nemocných. Z toho lze usuzovat na existenci dalších, zejména negenetických spouštěčů či akceleratorů imunopatologického procesu. Dobrymi kandidáty se zdají být viry, zejména pak enteroviry, ale tato skupina virů nemusí být jediná. V rámci práce se zaměřuji na studium celkového složení DNA viromu (množiny všech virů) ve vzorcích stolice z kohorty dětí s homogenně vysokým genetickým rizikem vzniku celiakie. Pracuji s nukleovou kyselinou izolovanou ze supernatantu stolic, kterou používám pro přípravu metagenomických knihoven. Knihovny jsou následně sekvenovány metodou sekvenování nové generace na platformě Illumina. Doposud jsem se podílela na přípravě a sekvenaci 661 knihoven. Po sekvenaci a bioinformatické analýze sekvencí bude výskyt virů a jejich motivů porovnán mezi jedinci s celiakální autoimunitou a bez ní.

Interakce matrixového proteinu Masonova-Pfizerova opičího viru s tRNA

Bc. Karolína Štrbová (M2)

Školitel: doc. Ing. Jan Lipov, Ph.D.

Masonův-Pfizerův opičí virus (M-PMV) je retrovirus typu B/D, u kterého jsou časově i prostorově odděleny procesy skládání virové částice (v cytoplazmě hostitele) a transport k cytoplazmatické membráně s následným pučením. Matrixový protein (MA) je jeden ze strukturních proteinů virové částice. Pomocí myristoylu na svém N-konci a kladně nabitých aminokyselin v silně bazické oblasti (HBR, z angl. „high basic region“) interaguje s membránami, což umožňuje regulaci transportu a pučení virové částice ven z buňky. U M-PMV aminokyselinové záměny lysinů HBR v pozicích 16 a 20 za alanin způsobily pučení do intracelulárních vezikul. V případě HIV-1, jehož matrixový protein je funkčně i strukturně podobný MA M-PMV, byla popsána interakce MA s tRNA, která brání nespecifické interakci s jinými membránami než cytoplasmatickou. Vzhledem ke zmíněné podobnosti lze uvažovat, že ke stejné regulaci dochází i u M-PMV. Za účelem ověření této hypotézy byl rekombinantně připraven nativní MA M-PMV a MA s aminokyselinovými záměnami v pozicích 16 a 20. Potenciální interakce připravených matrixových proteinů s tRNA byla studována pomocí gelové retardační analýzy (z angl. „electroforetic mobility shift assay“ - EMSA) a pomocí termoforézy v mikroměřítku.

Mikrobiologie

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

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

Ing. Jakub Sýs

Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

Ing. Jan Sácký, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

[Bc. Barbora Chylíková](#) (M2, Ing. Michal Strejček, Ph.D.)

Chemotaxonomická charakterizace nově izolovaných bakteriálních druhů z jáchymovských pramenů

[Bc. Monika Jiráčková](#) (M2, Ing. Barbora Svobodová)

Tvorba identifikačního systému pro rod Cronobacter v programu BioNumerics

[Bc. Jana Krejčíková](#) (M2, Ing. Jáchym Šuman, Ph.D.)

Vliv rozkladu kořenové biomasy Helianthus annuus L. na složení mikrobiomu půdy

[Bc. Michaela Kubáňová](#) (M2, doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.)

Antibiofilmové účinky molybdenových klastrů

[Bc. Michaela Neubergerová](#) (M2, prof. RNDr. Olga Valentová, CSc.)

Sekreduje Leptosphaeria maculans extracelulární váčky?

[Bc. Manuela Tadrossová](#) (M2, Ing. Jáchym Šuman, Ph.D.)

Metabolismus flavonoidů a jejich role v indukci aromatických dioxygenas v půdní bakterii Rhodococcus sp. C1

[Bc. Kateřina Čamrová](#) (M2, Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.)

Izolace RNA viru SARS-Cov-2 z odpadních vod a kalů

[Bc. Alena Řápková](#) (M2, Ing. Zita Holík Purkrtová, Ph.D.)

Izolace lipidových tělísek chladově aktivních bakterií Arthrobacter GY26 a Arthrobacter CH07

vyhlášení výsledků

Chemotaxonomická charakterizace nově izolovaných bakteriálních druhů z jáchymovských pramenů

Bc. Barbora Chylíková (M2)

Školitel: Ing. Michal Strejček, Ph.D.

V Jáchymově se setkáváme s podzemními prameny bohatými na obsah radonu. Toto extrémní prostředí nabízí možnost výskytu unikátních mikroorganismů, které doposud nebyly taxonomicky zařazeny. Cílem této práce je chemotaxonomická charakterizace tří dříve nepopsaných bakteriálních druhů rodu *Phenylobacterium*. Konkrétně se jedná o izoláty 367 a 424, jejichž nejbližším typovým zástupcem na základě podobnosti sekvence genu pro 16S rRNA je *P. immobile* kmen E a izolát 420, který má za nejbližšího typového zástupce *P. muchangponense* kmen A8T. V rámci chemotaxonomické analýzy bylo stanoveno optimální růstové medium a optimální růstová teplota na 28 °C pro všechny tři izoláty. Biochemickými testy bylo zjištěno, že se jedná o gramnegativní, kataláza pozitivní a cytochrom c negativní kmeny. Za použití komerční soupravy API[®]ZYM byl stanoven enzymatický profil izolátů, který se skládal především z enzymů katalyzujících hydrolýzu peptidů a proteinů. Následně byl proveden test utilizace široké škály substrátů pomocí soupravy API[®]50CH, který prokázal sníženou schopnost izolátů utilizovat sacharidy. Výsledkem kompletní charakterizace izolátů bude podrobný popis všech třech kmenů a bude diskutována rozdílnost fylogeneticky podobných izolátů 367 a 424 pocházejících z odlišného zdroje.

Tvorba identifikačního systému pro rod *Cronobacter* v programu BioNumerics

Bc. Monika Jiráčková (M2)

Školitel: Ing. Barbora Svobodová

Bakterie rodu *Cronobacter* jsou gram-negativní bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae*. Jedná se o oportunní patogeny ohrožující převážně kojence a jedince s oslabenou imunitou. Rod v sobě zahrnuje sedm druhů, z nichž jsou s klinickými případy spojeny hlavně dva druhy, a to *C. sakazakii* a *C. malonaticus*. Cílem této práce je vytvořit identifikační systém v programu BioNumerics, jenž by byl schopen rozlišit druhy rodu *Cronobacter* na základě spekter naměřených metodou hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF. Pro vytvoření databáze bylo použito 31 kmenů *Cronobacter* spp. zastupující všechny druhy. BioNumerics nabízí několik možností identifikačních klasifikátorů: podle seznamů píků, na základě podobnosti za použití vhodného korelačního koeficientu a pomocí spektrálních dat. Možnosti klasifikace byly otestovány s původním nastavením nabízeným programem a s vlastním nastavením přizpůsobeným pro použitá data. Jako nejvhodnější se ukázal klasifikátor využívající spektrální data. Pomocí tohoto klasifikátoru bylo při identifikaci 33 kmenů nepoužitých pro tvorbu databáze správně určeno 84 % spekter. BioNumerics nabízí řadu přizpůsobení, jež slibuje vylepšení úspěšnosti identifikace. Vytvořená databáze by se dala využít pro identifikaci bakterií z klinických vzorků či vzorků potravin.

*Vliv rozkladu kořenové biomasy *Helianthus annuus* L. na složení mikrobiomu půdy*

Bc. Jana Krejčíková (M2)

Školitel: Ing. Jáchym Šuman, Ph.D.

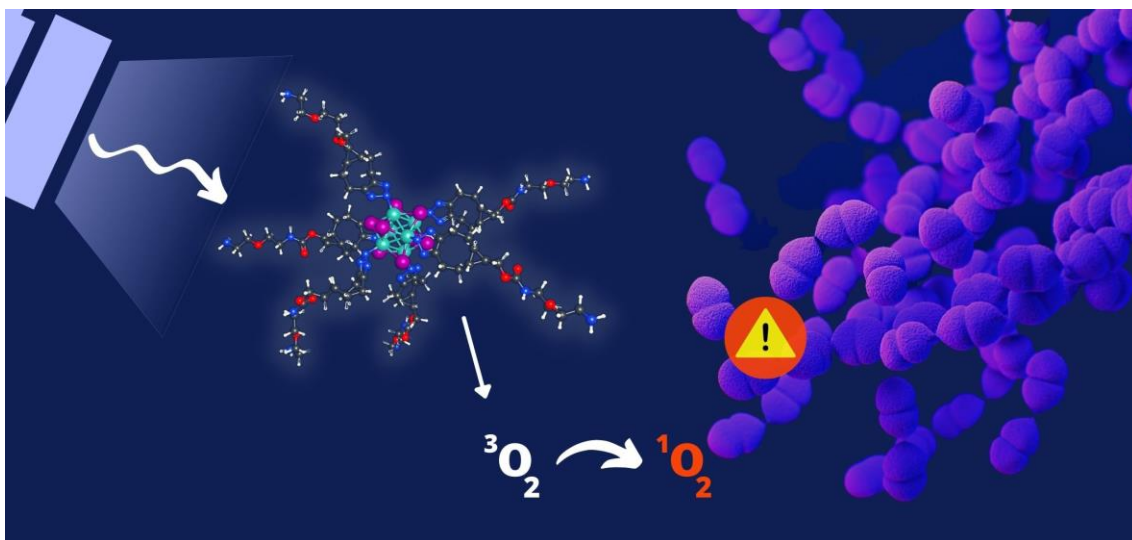
Rhizosféra je domovem obrovského množství mikroorganismů, které mají významný podíl na růstu, výživě a zdraví rostlin. Kompozice rhizosférních mikrobiálních komunit je ovlivňována přímo rostlinami, jelikož ty svými kořeny vylučují do okolní půdy látky sloužící jako zdroje uhlíku či energie pro půdní mikroorganismy a sloučeniny působící jako chemoatraktanty nebo naopak antibiotika. Tato práce se zabývá studiem struktury mikrobiálních komunit v půdě vystavené rozkladu kořenové biomasy různých kultivarů *Helianthus annuus* L. (slunečnice roční), které se od sebe liší metabolickým složením svých kořenů. Cílem práce je poté blíže zjistit, jak se mění složení komunit prokaryot a hub v půdě s rozkládajícími se kořeny v čase, a zároveň identifikovat metabolity, které jsou v procesu utváření půdních komunit po úhynu slunečnic nejdůležitější. Tohoto cíle bude dosaženo pomocí molekulárně-biologické a následně bioinformatické analýzy sekvencí prokaryotních a fungálních taxonomických markerů (gen pro 16S rRNA a úsek ITS2) v souvislosti s výsledky z necílené metabolické analýzy vzorků půdy pomocí HPLC/MS.

Antibiofilmové účinky molybdenových klastrů

Bc. Michaela Kubáňová (M2)

Školitel: doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.

Vplyvom neustále rastúcej antibiotickej rezistencie je potrebné prichádzať s novými možnosťami likvidácie baktérií a bakteriálneho biofilmu. Práve bakteriálny biofilm disponuje zvýšenou mechanickou i biochemickou odolnosťou oproti samotným planktonickým bunkám a často stojí za šírením nozokomiálnych infekcií v nemocničnom prostredí. Cieľom tejto práce bolo testovanie efektu klastrov na bázi molybdenu ($\text{Na}_2[\text{Mo}_6\text{I}_8(\text{N}_3)_6]$) na rast bakteriálneho biofilmu. Princíp tejto metódy sa opiera o základy fotodynamickej terapie, kde vplyvom žiarenia s určitou vlnovou dĺžkou (400-460 nm) dochádza k excitácii klastru a k následnej tvorbe singletového kyslíka, ktorý je pre baktérie toxický. Zároveň voči týmto látkam nebola doposiaľ preukázaná tvorba rezistencie, vďaka čomu je tento spôsob inaktívácie baktérii veľmi atraktívny. Vykonaných bolo niekoľko typov experimentov, ktoré poukazujú na antimikrobiálne účinky týchto látok, a to ako voči samotným planktonickým bunkám, tak i voči tvorbe biofilmu. Preukázaná bola fototoxicita v rádrových rozdieloch, obzvlášť u zástupcov gram pozitívnych baktérií. Následne bol skúmaný vplyv zloženia média na výsledný účinok týchto klastrov. Ukázalo sa, že účinnosť fotodynamickej terapie je ovplyvnená koncentráciou nutrientov a metabolických produktov v médiu.



Sekretuje Leptosphaeria maculans extracelulární váčky?

Bc. Michaela Neubergerová (M2)

Školitel: prof. RNDr. Olga Valentová, CSc.

Leptosphaeria maculans je celosvětově rozšířený houbový patogen vyvolávající u rostlin z čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*) onemocnění známé jako fómové černání stonku. Škody působí zejména na řepce olejce (*Brassica napus*), která je v současnosti jednou z nejpěstovanějších plodin vůbec. Epidemie fómového černání stonku dokážeme dnes poměrně úspěšně eliminovat pěstováním rezistentních odrůd, aplikací fungicidů nebo střídáním pěstovaných plodin. *L. maculans* však dokáže nastavenou rezistenci velmi rychle překonat. Je proto klíčové dále zkoumat molekulární mechanismy, které *L. maculans* při kolonizaci apoplastu hostitelské rostliny využívá. Jedním z nich by mohla být sekrece extracelulárních váček. Extracelulární váčky jsou sférické, membránou obalené útvary, sekretované z buněk do extracelulárního prostředí. Jejich obsahem jsou zejména proteiny, lipidy a nukleové kyseliny. Jsou běžnou součástí řady fyziologických i patologických procesů a jak bylo nedávno zjištěno, také interakcí rostlin s patogeny. Jelikož byl výzkum houbových extracelulárních váček dosud zaměřen zejména na lidské patogeny, máme o váčkách produkovaných fytopatogenními druhy pouze velmi málo informací. Cílem této práce je izolovat extracelulární váčky produkované *L. maculans* a analyzovat jejich proteinový obsah.

*Metabolismus flavonoidů a jejich role v indukci aromatických dioxygenas v půdní bakterii *Rhodococcus* sp. C1*

Bc. Manuela Tadrosová (M2)

Školitel: Ing. Jáchym Šuman, Ph.D.

Flavonoidy, sekundární metabolity rostlin plní rozmanité ekologické funkce, představují potenciální induktory exprese genů *bphA* kódujících aromatické dioxygenasy, jež se podílí na degradaci aromatických polutantů, jakými jsou např. polychlorované bifenyly. Přítomnosti flavonoidů v rhizosféře v důsledku přirozené exudace kořenů tak lze využít k eliminaci těchto kontaminantů z životního prostředí. Tato práce je zaměřena na metabolismus flavonoidů v půdní bakterii *Rhodococcus* sp. C1 degradující spektrum organických polutantů. Z řady testovaných flavonoidů budou vybrány potenciální induktory exprese genu pro první a klíčový enzym této dráhy, tj. bifenyl- 2,3- dioxygenasu (*bphA*). Míra exprese tří variant genu *bphA* přítomných v půdní bakterii *Rhodococcus* sp. C1 bude sledována na úrovni mRNA s využitím RT- qPCR. Za tímto účelem byla navržena metoda izolace RNA, primery a podmínky qPCR. Sledování indukce exprese bifenyl- 2,3- dioxygenasy vybranými flavonoidy je doplněno o stanovení schopnosti kmene C1 tyto flavonoidy využít či transformovat. Takto bylo zjištěno, že kmen C1 je schopen utilizace flavanonu, naringenin, katechinu a daidzeinu, a zároveň transformace flavanonu, naringenin, katechinu, kvercetin a luteolinu.

Izolace RNA viru SARS-Cov-2 z odpadních vod a kalů

Bc. Kateřina Čamrová (M2)

Školitel: Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

SARS-Cov-2 patří mezi obalené viry s jednovláknovou RNA s pozitivní polaritou z čeledi *Coronaviridae*. Je původcem onemocnění COVID-19, které způsobuje přetrvávající celosvětovou pandemii. V rámci monitorování výskytu viru v populaci je kromě testování osob také možná analýza odpadních vod. Monitoring množství koronaviru v odpadních vodách může korelovat s počtem skutečně nakažených lépe než data z klinického testování, neboť vylučování viru do odpadních vod nezávisí na podstoupení vyšetření. Na analýzu odpadních vod v rámci projektu ARGTech se používá hlavní přítok na pražskou Ústřední čistírnu odpadních vod i odpadní vody z určitých lokalit (např. VŠ koleje, sídliště, centrum města atd.). V mé práci byl mimo odpadní vodu analyzován také primární kal, který je hlavním odpadním produktem v procesu čištění odpadních vod, do kterého se koncentrují nežádoucí složky (hrubé nečistoty aj.) obsažené ve vodě. Zachycují se v něm i virové částice SARS-Cov-2. Cílem práce je porovnat účinnost různých izolačních technik virové RNA z odpadní vody; případně porovnání přítomnosti virových částic v odpadní vodě vůči primárnímu kalu. Tato práce byla finančně podpořena grantem TA ČR č. SS01020112 „Technologie pro odstraňování antibiotické rezistence z čistírenských kalů používaných v zemědělství“.

Izolace lipidových tělísek chladově aktivních bakterií Arthrobacter GY26 a Arthrobacter CH07

Bc. Alena Řápková (M2)

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

Lipidová tělíska jsou považována za samostatné organely, které se vyskytují u prokaryotických i eukaryotických mikroorganismů. Struktura lipidových tělísek se skládá z hydrofobního jádra, které je obklopeno fosfolipidovou monovrstvou s asociovanými proteiny. Lipidová tělíska u prokaryotických mikroorganismů mohou být dvojího typu. První typ lipidových tělísek obsahuje ve svém hydrofobním jádru triacylglyceroly či estery vosku. Druhý typ lipidových tělísek se nazývá PHA granule. PHA granule obsahují ve svém hydrofobním jádru polyhydroxyalkanoáty. Doposud není známo, zda kmeny *Arthrobacter* GY26 a *Arthrobacter* CH07 produkují lipidová tělíska. Pokud by lipidová tělíska byla produkována, mohla by obsahovat lipidy specifické pro mikroorganismy adaptované na chlad. Je známo, že tyto mikroorganismy obsahují lipidy vyznačující se vyšším počtem dvojných vazeb, etherovými vazbami a dalšími charakteristikami. Tyto lipidy by mohly sloužit k nahrazení rostlinných olejů při výrobě bionafty, polyhydroxyalkanoáty by mohly být použity při výrobě bioplastů. Cílem této práce je ověřit, zda vybrané kmeny chladově aktivních bakterií tvoří lipidová tělíska, a pokusit se o jejich purifikaci a charakterizaci.

Produkce a studium proteinů

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

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

Ing. Ludmila Karamonová, Ph.D.

Ing. Sabina Purkrtová, Ph.D.

Ing. Hana Stiborová, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

[Bc. Simona Galádová](#) (M2, doc. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.)

Characterization of novel mutations in an RNA-cleaving deoxyribozyme

[Bc. Blanka Hustáková](#) (M2, doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.)

Molekulární charakteristiky S1-P1 nukleas z lidských patogenů

[Bc. Tomáš Ludvík](#) (M2, prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.)

Příprava a charakterizace vybraných nestrukturních proteinů +RNA virů

[Bc. Aneta Machalíková](#) (M2, Ing. Eva Benešová, Ph.D.)

Fukosidasa z chladově-adaptovaného bakteriálního kmene C1-1

[Bc. Ľubomíra Papíková](#) (M2, doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.)

Nespecifická fosfolipasa C z Arabidopsis thaliana: vztah struktury a funkce

[Bc. Petra Tichá](#) (M2, doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.)

Chladově aktivní amylasa z kvasinky Mrakiella aquatica

[Bc. Tereza Volfová](#) (M2, Ing. Eva Benešová, Ph.D.)

α -L-Fukosidasy mořské bakterie Microscilla sp. PRE1

[Bc. Karolína Zvonařová](#) (M2, Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.)

Rekombinantní produkce matrixového proteinu viru Rousova sarkomu

vyhlášení výsledků

Characterization of novel mutations in an RNA-cleaving deoxyribozyme

Bc. Simona Galádová (M2)

Školitel: doc. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.

Deoxyribozymes are deoxyribonucleic acids with catalytic activity. One example is DVANACTKA, which was discovered using artificial evolution. DVANACTKA can cleave itself when a specific deoxyribonucleotide in the primary sequence is replaced by ribonucleotide. The secondary structure of DVANACTKA is similar to that of a deoxyribozyme called 8-17. One way to characterize DVANACTKA is based on its catalytic activity. This can be done by determining the percentage of cleaved deoxyribozyme. Divalent ions of lead, or magnesium are typically used as activators. Lead was used in these experiments since it is known to be important for both DVANACTKA and 8-17. Our results confirm that both deoxyribozymes are activated by lead. After 80 minutes 8-17 cleaved up to 72 % of present molecules and DVANACKA reached an even higher percentage – over 80 %. In a second approach, the 3D structure of DVANACTKA was modelled by SimRNA. The program is designed to create models of potential 3D structures of nucleic acids. The modelling was performed twice. One run was performed using only the primary sequence while the second used the known secondary structure of DVANACTKA as an input. The result predictions differ from one another depending on initial data.

Molekulární charakteristiky S1-P1 nukleas z lidských patogenů

Bc. Blanka Hustáková (M2)

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

S1-P1 nukleasy jsou metaloenzymy se třemi ionty kovů v aktivním místě. Katalyzují štěpení nukleových kyselin, RNA i DNA, a většina z nich vykazuje preferenci pro jednořetězcové nukleové kyseliny (RNA, ssDNA) oproti dvouřetězcovým nukleovým kyselinám (dsDNA). Díky této vlastnosti našly některé z nich využití v biotechnologiích, či jsou studovány pro své protinádorové účinky. Některé lidské patogeny, jako jsou bakterie *Stenotrophomonas maltophilia*, *Legionella pneumophila* nebo zástupci patogenních trypanosomatid, produkují S1-P1 nukleasy, zatímco u savců se tyto nukleasy nevyskytují. Studium těchto nukleas proto může přispět k novým terapeutickým postupům při léčbě infekcí způsobených multirezistentními kmeny. Práce je zaměřena na S1-P1 nukleasu ze *Stenotrophomonas maltophilia* (SmNuc1), která je připravována rekombinantně v *E. coli*, s cílem charakterizovat její enzymatické vlastnosti a získat struktury komplexů SmNuc1 s ligandy podobnými nukleotidům. Pomocí rentgenové krystalografie byly vyřešeny struktury SmNuc1 s ligandy aciklovirem a favipiravirem v aktivním místě, které jsou potenciálními inhibitory SmNuc1. Zároveň dosavadní výsledky studie enzymatické aktivity naznačují, že SmNuc1 má vlastnosti vhodné pro některé biotechnologické aplikace.

Příprava a charakterizace vybraných nestrukturních proteinů +RNA virů

Bc. Tomáš Ludvík (M2)

Školitel: prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.

V rámci této práce bude věnována pozornost nestrukturnímu proteinu 2A z rodiny *Picornaviridae*. Jedná se o rozmanitou skupinu kódujících ssRNA virů. Z této velké skupiny virů jsem se zaměřil na Aichi virus a Coxsackie virus B3. Oba viry patří mezi lidské patogeny, Aichi virus je původcem gastroenteritidy a Coxsackie virus B3 může v nejhorších případech způsobit dilatační kardiomyopatii. Kardiomyopatie vede ke špatné funkci srdce důsledkem jeho rozšíření. Protein 2A^{pro} Coxsackie viru B3 zastává mnoho důležitých funkcí v jeho životním cyklu. Jedná se o proteasu, jež se podílí na štěpení virového polyproteinu. Pomocí 2A^{pro} dokáže virus obejít imunitní odpověď hostitele a zastavit produkci klíčových hostitelských proteinů. Z tohoto důvodu je 2A proteasa vhodným cílem pro zásah antivirotyky. Cílem této práce je připravit a charakterizovat dva rekombinantní proteiny 2A z Aichi viru a Coxsackie viru B3. Prvním krokem je příprava expresních plasmidů. Následně bude provedena metoda rekombinantní exprese. Druhým krokem bude izolace a purifikace rekombinantních 2A proteinů. V posledním kroku této práce budeme získané rekombinantní proteiny studovat, bude se jednat o enzymatickou charakterizaci těchto proteinů či případné vyřešení struktury metodou proteinové krystalografie.

Fukosidasa z chladově-adaptovaného bakteriálního kmene C1-1

Bc. Aneta Machalíková (M2)

Školitel: Ing. Eva Benešová, Ph.D.

α -L-Fukosidasy patří mezi enzymy z třídy hydrolas, konkrétně se jedná o glykosidasy. Katalyzují odštěpení L-fukosy z neredukujícího konce oligosacharidů nebo fukosylovaných konjugátů. V lidském organismu jsou důležité při mezibuněčných interakcích, imunitních reakcích, degradaci fukosylovaných konjugátů v lysozomu, při oplození vajíčka anebo výživě mikrobiomu. α -L-Fukosidasa z *Arthrobacter* sp. C1-1 se řadí do rodiny glykosidas GH29. Některé enzymy z této rodiny jednak hydrolyzují glykosidovou vazbu, jak bylo zmíněno výše, ale za určitých laboratorních podmínek katalyzují i reakce transglykosylační. Této schopnosti lze využít například při přípravě oligosacharidů mateřského mléka anebo terapeutik pro léčbu rakoviny. *Arthrobacter* sp. C1-1 je organismus adaptovaný na prostředí s trvale nízkou teplotou. Je tudíž možné, že i enzymy pocházející z tohoto organismu budou nízkým teplotám vhodně přizpůsobené a díky tomu průmyslově zajímavé. V rámci této diplomové práce byla úspěšně indukována syntéza α -L-fukosidasy v původním organismu *Arthrobacter* sp. C1-1 během kultivace v médiu obsahujícím L-fukosu. Dále byl enzym připraven rekombinantně v bakterii *E. coli* BL21 (DE3) a v následující práci se předpokládá charakterizace jeho hydrolytických a transglykosylačních vlastností.

Nespecifická fosfolipasa C z Arabidopsis thaliana: vztah struktury a funkce

Bc. Ľubomíra Papíková (M2)

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

Lipidová signalizace se u rostlin stala jednou z hlavních signalizačních sítí jako adaptivní mechanismus v reakci na různé enviromentální vlivy. Fosfolipasy jsou enzymy, které zprostředkovávají přestavbu membránových lipidů, neboť katalyzují počáteční krok štěpení fosfolipidů a vytvářejí řadu druhých poslů odvozených od lipidů. Fosfolipasy C jsou důležitá skupina enzymů hydrolyzující lipidy jak u rostlin, tak i u živočichů. V genomu *Arabidopsis thaliana* bylo identifikováno šest isoform fosfolipasy C, které si svou širokou substrátovou specifitou vysloužily pojmenování nespecifické fosfolipasy C – NPC. V této práci navazuji na předešlou diplomovou práci, kde za účelem objasnit vztah struktury a katalytické aktivity NPC4 v *A. thaliana* byly navrženy a vytvořeny mutace v okolí aktivního místa. Modifikované enzymy byly produkovány v kmenu Arctic Express *E. coli* nicméně jejich purifikace nebyla úspěšná. Pro lepší purifikaci byla vyzkoušena změna podmínek (pH), vliv detergentů ovšem bez významných výsledků. Možným vlivem v purifikačním procesu by mohla mít poměrně dlouhá aminokyselinová sekvence s His kotvou na N-konci proteinu, která je v blízkosti aktivního místa enzymu a proto vyštěpení této sekvence by mohlo vést k úspěšné purifikaci tohoto proteinu a následnému stanovení aktivity.

*Chladově aktivní amylasa z kvasinky *Mrakiella aquatica**

Bc. Petra Tichá (M2)

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

Biosféra Země je převážně chladná a trvale vystavena teplotám pod 5°C. Tak nízká průměrná teplota vyplývá hlavně ze skutečnosti, že většina povrchu Země je pokryta oceány. I přes silný negativní účinek nízkých teplot v těchto místech žijí organismy, které se svými vlastnostmi vyrovnávají organismům žijícím v mezofilních podmínkách. Tyto psychofilní organismy produkují enzymy vykazující vyšší katalytickou aktivitu při nízké teplotě ve srovnání s jejich mezofilními protějšky. Jedním z potenciálně využitelných chladově aktivních enzymů je α -amylasa, která by našla uplatnění v mnoha průmyslových odvětvích. Amylasy jsou enzymy ze třídy hydrolas, které štěpí α -1,4 glykosidickou vazbu makromolekul škrobu. Ve své práci se zabývám přípravou rekombinantní chladově aktivní α -amylasy pocházející z psychofilní kvasinky *Mrakiella aquatica*. Dosud byl připraven vektor nesoucí gen pro α -amylasu, a ten byl následně transformován do kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. Enzym měl být produkován intracelulárně, ale identifikace pomocí metody western blot však nepotvrdila přítomnost tohoto enzymu. Proto byla do plasmidu přidána signální sekvence směřující produkci α -amylasy do extracelulárního prostoru. Po transformaci *Saccharomyces cerevisiae* bude stanovena amylasová aktivita v médiu.

*α -L-Fukosidasy mořské bakterie *Microscilla* sp. PRE1*

Bc. Tereza Volfová (M2)

Školitel: Ing. Eva Benešová, Ph.D.

α -L-Fukosidasy jsou enzymy z třídy hydrolas, které katalyzují odštěpování α -L-fukosylových zbytků z neredukujících konců oligosacharidů, glykoproteinů a glykolipidů. Za vhodných podmínek jsou některé α -L-fukosidasy schopny katalyzovat reakce, během kterých dochází k připojení α -L-fukosylového zbytku na různé akceptorové molekuly. Vzhledem k významu α -L-fukosylovaných molekul pro lidský organismus (fertilizace, buněčná adheze apod.) je tato vlastnost α -L-fukosidas často využívána pro syntézu L-fukosylovaných molekul, například oligosacharidů mateřského mléka, které přirozeně poskytují kojencům ochranu před mikrobiálními patogeny. Mořské prostředí představuje velký zdroj neprobádaného biologického materiálu včetně enzymů, které by mohly být díky svým vlastnostem využity v biotechnologiích nebo potravinářském průmyslu. O mořské bakterii *Microscilla* sp. PRE1 je známo, že obsahuje megaplasmid pSD15 (velikost 101 kbp), na kterém jsou přítomny dva různé geny kódující α -L-fukosidasy. Cílem experimentální části je ověřit možnost indukovat produkci těchto enzymů přímo ve studovaném organismu a zároveň se pokusit o jejich rekombinantní produkci v buňkách *E. coli* BL21 (DE3). V případě úspěšné produkce by byly charakterizovány jejich hydrolytické a transglykosylační schopnosti.

Rekombinantní produkce matrixového proteinu viru Rousova sarkomu

Bc. Karolína Zvonařová (M2)

Školitel: Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

Virus Rousova sarkomu je retrovirus typu C, jež způsobuje sarkom u ptáků. V pozdní fázi jeho životního cyklu dochází k transportu polyproteinů Gag k vnitřní straně cytoplazmatické membrány, se kterou interagují. Tyto procesy jsou zprostředkovány matrixovým proteinem (MA), jež představuje N-terminální doménu polyproteinu Gag. Na rozdíl od většiny retrovirů není MA RSV N-terminálně myristoylován. Interakce s membránami je tedy zprostředkována pouze elektrostatickými interakcemi. Studium interakce MA s membránami, respektive pozorování vlivu dalších domén Gag na tuto interakci a také role této interakce na případné štěpení Gag virovou proteasou, by mělo přispět k bližšímu objasnění pozdní fáze životního cyklu RSV. Cílem dosavadní práce bylo rekombinantně produkovat dvě varianty proteinu: samotný MA a MA s následujícími doménami p2 a p10 (MAP). Za tímto účelem byly z vektoru obsahujícího genom RSV amplifikovány příslušné nukleotidové sekvence pomocí metody PCR a použitím restriční štěpení byly vloženy do vektoru pET-22b (pelB-). Takto připravenými vektory byly transformovány bakteriální buňky *Escherichia coli* BL21(DE3) a BL21(DE3)-RIL, se kterými byla provedena zkušební produkce proteinů MA a MAP. Produkce ovšem nebyla úspěšná a nyní analyzujeme možné příčiny.

Vliv malých molekul na metabolismus

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

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

ng. Zita Holík Purkrtová, Ph.D.

Ing. Jáchym Šuman, Ph.D.

Ing. Eva Jablonská, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

[Bc. Martin Beles](#) (M2, Ing. Hana Michova, Ph.D.)

Faktory ovlivňující dynamiku tvorby signálních molekul Campylobacter jejuni

[Bc. Jana Bláhová](#) (M2, Ing. Petr Svoboda, Ph.D.)

Vliv derivátů tetrahydropyridinu na funkční odpověď muskarinových receptorů

[Bc. Monika Charvátová](#) (M2, Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.)

Fluorescenční deriváty digitoxinu: indukce buněčné smrti, cytotoxicita a působení na buněčný cyklus plicních buněk

[Bc. Mária Goliašová](#) (M2, Ing. Eva Jablonská, Ph.D.)

In vitro testování steroidních látek - interakce s estrogenovým a androgenovým receptorem

[Bc. Irena Jochovičová](#) (M2, Ing. Jan Sácký, Ph.D.)

Charakterizace biochemických aspektů hyperakumulace Cd v Agaricus crocodilinus

[Bc. Tomáš Nejedlý](#) (M2, Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.)

Použití 2D a 3D buněčných modelů pro testování potenciálu kanabinoidů modulovat mnohočetnou lékovou rezistenci

[Bc. Lukáš Sainer](#) (M2, PharmDr. Jindřiška Angelini, Ph.D.)

Sledování působení nanočástic na orgánové i subcelulární úrovni u adf4 mutantů Arabidopsis thaliana

[Bc. Marta Štindlová](#) (M2, Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.)

Vliv chlorhexidinu na tvorbu biofilmu Staphylococcus aureus, Escherichia coli a Pseudomonas aeruginosa

vyhlášení výsledků

Faktory ovlivňující dynamiku tvorby signálních molekul Campylobacter jejuni

Bc. Martin Beles (M2)

Školitel: Ing. Hana Michova, Ph.D.

Campylobacter jejuni patří mezi nejrozšířenější potravinové patogeny. Pro rozmnožování a aktivaci faktorů virulence využívá quorum sensing založený na produkci signálních molekul. Cíle této práce jsou optimalizace metodiky pro kvantifikaci autoinduktoru AI-2, určení dynamiky jeho produkce v prostředí hostitele a mimo něj, porovnání produkce s úrovní exprese genu *luxS* a následné vyhodnocení faktorů ovlivňujících produkci AI-2. K měření je využita bioluminiscenční esej využívající reportérový kmen *Vibrio campbellii*. Pro určení dynamiky tvorby AI-2 budou v pravidelných intervalech odebrány vzorky narostlé suspenze *C. jejuni*, ze které bude získán supernatant pro stanovení AI-2, a zároveň bude z buněk izolována mRNA pro analýzu transkripce *luxS*. V rámci optimalizace byly vyzkoušeny tři ředění výchozí suspenze reportéra v kombinaci se dvěma poměry supernatantů. Dále byl vyhodnocen vliv přítomnosti médií pro kultivaci *C. jejuni* na produkci AI-2 pozitivní kontrolou *V. campbellii* a na bioluminiscenci reportérového kmene. Také byla vyhodnocena teplotní a časová stabilita AI-2 v izolovaných supernatantech. Nejlepší výsledky byly dosaženy při použití 500x ředěné výchozí suspenze reportéra v poměru 9:1 k supernatantům, které je možné uchovávat při -80 °C po dobu minimálně jednoho týdne.

Vliv derivátů tetrahydropyridinu na funkční odpověď muskarinových receptorů

Bc. Jana Bláhová (M2)

Školitel: Ing. Petr Svoboda, Ph.D.

Muskarinové receptory spřažené s G-proteiny se nachází v centrální i periferní nervové soustavě. Jejich zvýšená aktivace je spojena s neurologickými a psychiatrickými onemocněními. Terapeutický význam má proto vývoj nových selektivních dlouhodobě působících látek, které by snížily množství vedlejších účinků léčiva. Deriváty tetrahydropyridinu KH-5 a OT-231 jsou bitopiční dlouhodobě působící antagonisté muskarinových receptorů, za jejichž dlouhodobé působení je zodpovědná *O*-hexylová skupina. Pro zvýšení potence inhibice funkční odpovědi byly syntetizovány deriváty s různou polohou *O*-hexylové skupiny a s vnesenou chinuklidinylovou skupinou. Cílem práce bylo sledování vlivu derivátů na funkční odpověď receptorů. Stanovení na podtypech muskarinových receptorů M_1 , M_3 a M_5 bylo provedeno na buněčné linii CHO metodou akumulace inositolfosfátů. Metoda GTPgammaS byla využita na stanovení akutního působení na podtypech M_2 a M_4 produkovaných rekombinantně. Výsledky naznačují, že poloha *O*-hexylové skupiny nemá vliv na funkční odpověď, naopak vnesení chinuklidinylové skupiny vede ke stonásobné inhibici funkční odpovědi. Inhibice odpovědi je vyšší než vazebná afinita těchto látek, což ukazuje na allosterickou nebo nekompetitivní inhibici.

Fluorescenční deriváty digitoxinu: indukce buněčné smrti, cytotoxicita a působení na buněčný cyklus plicních buněk

Bc. Monika Charvátová (M2)

Školitel: Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.

Digitoxin izolovaný z náprstníku červeného patří mezi kardioglykosidy uplatňující se především v léčbě srdečních selhání. Podstatou biologické aktivity digitoxinu je schopnost inhibovat sodno-draselnou ATPasu (NKA), což vede k pozitivně inotropnímu účinku a zesílení svalové kontrakce. Díky interakci s NKA digitoxin zároveň indukuje zastavení buněčné proliferace a apoptózu nádorových buněk, díky čemuž by mohl být uplatněn v protinádorové terapii. Nevýhodou je jeho úzké terapeutické okno, proto je třeba derivatizace jeho struktury. V této práci byla studována biologická aktivita osmi fluorescenčních konjugátů digitoxinu. Metodou WST-1 byla stanovena cytotoxicita těchto konjugátů po 24 h na buňkách A549 (adenokarcinom plic) a plicních fibroblastech (MRC-5). Dále bylo pomocí průtokové cytometrie studováno působení digitoxinu na buněčný cyklus linie A549 po 24 h při 5-100 nM koncentracích a mechanismus buněčné smrti způsobený studovanými konjugáty. Při zvolených koncentracích však nebyl cyklus ovlivněn. Dále bylo zjištěno, že všechny testované konjugáty vykazovaly 8-540x nižší cytotoxicitu než digitoxin, což je pozitivní výsledek vzhledem k jeho nadměrně vysoké toxicitě. Z výsledků vykazuje digitoxin derivatizovaný zeleně emitujícím BODIPY nejvyšší potenciál k podrobnějšímu zkoumání.

In vitro testování steroidních látek - interakce s estrogenovým a androgenovým receptorem

Bc. Mária Goliašová (M2)

Školitel: Ing. Eva Jablonská, Ph.D.

Před samotným testováním léčiv na zvířatech je potřeba provést řadu testů z hlediska bezpečnosti pro lidský organismus. Námi zkoumaných 21 steroidů má potenciál příznivě ovlivnit lékovou rezistenci. V této práci jsme se v rámci testování *in vitro* zaměřily na jejich možnou nežádoucí interakci s receptory pohlavních hormonů. Pomocí savčích buněčných linií hER α -HeLa-9903, resp. MDA-kb2 byly provedeny testy pro zjištění možného vyvolání nežádoucí estrogení, resp. androgení aktivity. Pro stanovení této aktivity byl použitý test aktivace transkripce, kde po navázání ligandu (v našem případě jeden z 21 steroidů) na estrogení/ androgení receptor dochází ke vzniku komplexu receptor-ligand. Tento komplex je translokován do jádra buněk, kde se váže ke specifickým prvkům DNA odpovědi a transaktivuje reporterový gen, což vede ke zvýšené buněčné expresi reporterového proteinu, stanoveného bioluminiscencí. Pomocí tohoto testu se podařilo prokázat, že námi sledované steroidy nemají schopnost vázat se na estrogení/ androgení receptor, a tedy z tohoto hlediska nevykazují negativní vliv na správné působení pohlavních hormonů. V budoucnu bude tento test proveden i na metabolitech těchto steroidů, které budou získány testem metabolické aktivace jaterním homogenátem S9.

Charakterizace biochemických aspektů hyperakumulace Cd v *Agaricus crocodilinus*

Bc. Irena Jochovičová (M2)

Školitel: Ing. Jan Sácký, Ph.D.

Agaricus crocodilinus je vzácná saprotrfní houba, u níž byla prokázána schopnost akumulovat těžké kovy, jako jsou Cd, Zn, Cu a Ag, ve velmi vysokých koncentracích. Koncentrace akumulovaného Cd dosahují až stovek mg kg^{-1} suché váhy plodnice, čímž lze tento druh řadit mezi hyperakumulátory tohoto kovu. Pilotní pokusy ukázaly, že největší část Cd a Zn je v plodnicích vázána na intracelulární peptidy velikosti 6-10 kD, či je přítomna v komplexech o velikosti 0,3 kDa. V případě peptidů by se mohlo jednat o metalothioneiny, které jsou u vyšších hub nejčastějšími ligandy těžkých kovů peptidové povahy, nebo o domnělý mykofosfatin: již dříve popsáný glykoprotein, u kterého však doposud není známa jeho přesná sekvence. Byl učiněn pokus o izolaci a identifikaci tohoto glykoproteinu za využití speciálního barviva, ale jeho přítomnost zatím nebyla prokázána. Dalším přístupem, jak identifikovat Cd a Zn vazebné peptidy/proteiny je konstrukce expresní cDNA knihovny. Následně se práce bude zabývat identifikací genu proteinového transportéru PCR1, který by se mohl podílet na detoxifikaci iontů kovů Cd a Zn v *A.crocodilinus*.

Použití 2D a 3D buněčných modelů pro testování potenciálu kanabinoidů modulovat mnohočetnou lékovou rezistenci

Bc. Tomáš Nejedlý (M2)

Školitel: Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.

Mnohočetná léková rezistence (MDR) patří mezi jednu z nejčastějších příčin selhání léčby nádorů pomocí chemoterapie. Může být způsobena nadprodukcí ABC transportních proteinů (z angl. ATP binding cassette), jež jsou zodpovědné za eflux léčiv z cytosolu buněk. Nejčastěji nadměrně exprimovaným proteinem z této rodiny spojovaným s mnohočetnou lékovou rezistencí je P-glykoprotein. Potlačením jeho funkce, ať inhibicí nebo snížením exprese, lze zvýšit účinnost chemoterapeutik. Novou potenciální skupinu modulátorů P-glykoproteinu představují rostlinné extrakty a jejich aktivní složky jako například kanabinoidy, vykazující kromě modulace lékové rezistence také mnoho dalších biologických aktivit. V rámci testování těchto látek na 2D buněčných modelech byla využita lidská buněčná linie karcinomu vaječníku (HOC) a její sublinie rezistentní na doxorubicin (HOC/ADR). Některé z měřených látek (kanabidiol, kanabicyklol, kanabichromen, kanabigerolová kyselina) vykazovaly senzitivizaci rezistentní sublinie v důsledku čehož došlo ke snížení rezistence k doxorubicinu potřebného k inhibici růstu buněk. Další testování se zaměří na ověření potenciálu modulovat MDR na 3D modelech (mikrotumorech). Zároveň bude ověřen mechanismus působení látek pomocí přímé inhibice transportéru.

*Sledování působení nanočástic na orgánové i subcelulární úrovni u *adf4* mutantů *Arabidopsis thaliana**

Bc. Lukáš Sainer (M2)

Školitel: PharmDr. Jindřiška Angelini, Ph.D.

Výrazný nárůst využívání nanočástic stříbra, jak při katalýze kvůli redoxním vlastnostem, tak ve farmacii a medicíně díky antibakteriálním a protirakovinným účinkům, ale i ve spotřebitelském zboží, biosenzorech, textiliích a dalších využitích, vede i k nechtěným únikům nanočástic do přírody. Nanočástice pronikají do rostlin, kde se akumulují, působí jako stresové faktory a mohou ovlivňovat nejen jejich vývoj, ale postupem v potravním řetězci mohou negativně ovlivnit i lidský organismus. Naše experimenty odhalily, že jedním z obranných mechanismů *Arabidopsis thaliana* je ukládání rostlinného polysacharidu kalosy v buněčných stěnách. Při mechanickém poškození nebo dalších stresových situacích se v buňkách kalosa vyskytuje ve vyšších koncentracích a její depozicí do buněčné stěny, plasmodesmat nebo sítkovic krytosemenných rostlin se tvoří neprůchodná bariéra podobná buněčné stěně. Cílem této práce bylo sledovat změny na subcelulární úrovni u divokého typu a *adf4* mutantu *Arabidopsis thaliana* po ošetření stříbrnými nanočásticemi. Vhodnou instrumentální metodou ke sledování změn byla zvolena fluorescenční a konfokální mikroskopie.

Vliv chlorhexidinu na tvorbu biofilmu *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa*

Bc. Marta Štindlová (M2)

Školitel: Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

Biofilm-tvořící bakterie *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa* jsou často původci infekcí spojených s poraněním kůže. Jako prevence vzniku nežádoucího biofilmu v ranách jsou používány antimikrobiální látky rozpuštěné v roztoku nebo zabudované jako součást materiálů použitých ke krytí. Jednou z takových látek je chlorhexidin (CHX), jež se běžně nachází v dezinfekčních prostředcích nebo ústních vodách. V rámci této práce je zkoumán vliv CHX na potlačení tvorby biofilmu bakteriálních kmenů *S. aureus* CCM 3959, *E. coli* CCM 3954 a *P. aeruginosa* CCM 3955. Pro ověření vlivu bylo využito barvení krystalovou violetí a inverzní mikroskopie. Byly použity roztoky CHX (2 a 0,05 hm.%) rozpuštěné v ethanolu, a polyamidové (PA) nanomateriály s 2 wt% CHX. Bylo zjištěno, že roztok CHX v koncentraci od 0,05 hm.% potlačuje tvorbu biofilmu testovaných kmenů. Při kultivaci bakteriálních suspenzí v přítomnosti PA nanomateriálu s CHX se podařilo potlačit nárůst biofilmu oproti nefunkcionalizovanému PA nanomateriálu pouze v případě *S. aureus*. Je proto potřeba dalšího výzkumu ohledně těchto materiálů a jejich rozdílného vlivu na grampozitivní a gramnegativní bakterie.

Ústav sacharidů a cereálií (321)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Roman Bleha, Ph.D.

SEZNAM SEKČÍ

1. [SACHARIDY – CHEMIE A TECHNOLOGIE](#)

SPONZOŘI



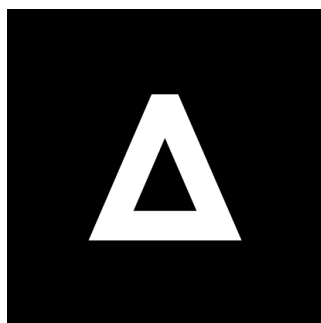
NICOLET CZ
MOLECULAR SPECTROSCOPY



Excellence in Science



Melvia↗



P-LAB

CHROMSPEC

SPOL. S R.O.



srdcem z příř♥dy

SACHARIDY – CHEMIE A TECHNOLOGIE

MÍSTO: KNIHOVNA ÚSTAVU B40

KOMISE

prof. ing. Zdeněk Bubník, CSc. (předseda)

doc. Ing. Evžen Šárka, CSc.

doc. Mgr. Andrej Sinica, Ph.D.

Ing. Svatopluk Henke, Ph.D.

ing. Pavel Skřivan, CSc.

Mgr. Petr Bzonek

PROGRAM

09:00 **zahájení**

[Bc. Márton Boráros](#) (M2, Ing. Vladimír Pour, CSc.)

Aplikace pokročilých oxidačních procesů pro rozklad vybraných organických polutantů

[Bc. Eliška Bělíková](#) (M2, Ing. Pavel Skřivan, CSc.)

Hydrotermická úprava pohanky

[Bc. Linda Fialová](#) (M2, Ing. Svatopluk Henke, Ph.D.)

Frakcionace technických cukerných roztoků

[Bc. Lucie Gebrtová](#) (M1, Ing. Pavel Skřivan, CSc.)

Hydrotermická úprava luštěnin pro výrobu bezlepkových chlebů

[Bc. Monika Nováková](#) (M1, Ing. Roman Bleha, Ph.D.)

Příprava polysacharidových filmů jako nosičů bioaktivních látek

[Bc. Barbora Pažoutová](#) (M1, prof. Ing. Jana Čopíková, CSc.)

Vývoj receptury nečokoládových cukrovinek s využitím částí léčivých rostlin

[Bc. Kateřina Prokopová](#) (M2, Ing. Petra Smrčková, Ph.D.)

*Studie vlivu přídavku dračího ovoce na reologické a fyzikální vlastnosti
extrudovaných výrobků*

[Alžběta Švingerová](#) (M1, doc. Ing. Marcela Sluková, Ph.D.)

Vývoj a hodnocení sušenek s přídavkem luštěnin

vyhlášení výsledků

Aplikace pokročilých oxidačních procesů pro rozklad vybraných organických polutantů

Bc. Márton Boráros (M2)

Školitel: Ing. Vladimír Pour, CSc.

Mikropolutanty jsou látky, které se do prostředí dostávají jenom v malých koncentracích, z důvodu jejich nízké biologické rozložitelnosti se však v přírodě hromadí a ve vyšších koncentracích pak mohou být nebezpečné. Mezi nejproblematictější mikropolutanty patří farmaceutika a antibiotika, kterých se v poslední době spotřebuje na světě obrovské množství. Tyto látky se dostávají do odpadních vod, mikrobiální kultura aktivovaného kalu na čističce odpadních vod však není schopná je rozložit. Dostávají se pak do životního prostředí prostřednictvím přírodních vodních zdrojů. Dlouhodobé vystavení těmto látkám má negativní vliv na přírodu i na lidi. Zvláště nebezpečná jsou antibiotika, protože jejich zvýšená koncentrace může způsobit výskyt bakteriálních druhů rezistentních na antibiotika. Abychom minimalizovali environmentální dopad těchto látek, musíme najít alternativní metodu čištění odpadních vod, která je schopna odstraňovat i mikropolutanty. V poslední době jedna z nejslibnějších technik je fotokatalýza s TiO_2 katalyzátorem. V této práci zkoumám, jestli fotokatalytický rozklad pěti vybraných látek-ibuprofenu, paracetamolu, penicilinu V, ciprofloxacinu a erythromycinu je možný, dostatečně účinný a jestli má šanci nahradit nebo doplnit dnešní metody čištění odpadních vod.

Hydrotermická úprava pohanky

Bc. Eliška Bělíková (M2)

Školitel: Ing. Pavel Skřivan, CSc.

Pohanka patří k nejrozšířenějším pseudoobilovinám pěstovaným v Evropě. V minulosti byla pohanka široce využívána k přípravě kaší připravených ze semen zbavených vnějšího obalu, tj. krup a pohankové lámanky. V minulých dvou staletích pohanka ustoupila chlebovým obilovinám, ale v současnosti je na základě poznatků o složení a nutriční hodnotě znovu využívána a ceněna jako surovina pro bezlepkovou dietu. Nažka pohanky vykazuje v porovnání s obilovinami vyváženější aminokyselinové složení, vyšší obsah vlákniny, vitaminů a obsahuje některé bioaktivní sloučeniny fenolické povahy, které jsou spojovány s pozitivními účinky na lidské zdraví. Pohanka se používá k přípravě bezlepkových výrobků, ale i k obohacení různých pekařských výrobků. Během hydrotermické úpravy dochází v obalových vrstvách nažky i endospermu k fyzikálním a fyzikálně-chemickým změnám. V rámci experimentu byly nažky pohanky podrobeny hydrotermické úpravě při různých teplotních režimech po různě dlouhou dobu. Ve vodném výluhu po hydrotermické úpravě byl po odstředění stanoven obsah sušiny pomocí refraktometru. Jeho hodnoty měly vzestupný trend se zvyšující se teplotou i dobou úpravy a lze tak předpokládat, že se mnohé látky včetně biologicky aktivních uvolňují a stávají tak potenciálně dostupnějšími.

Frakcionace technických cukerných roztoků

Bc. Linda Fialová (M2)

Školitel: Ing. Svatopluk Henke, Ph.D.

Technické cukerné roztoky jsou roztoky cukru obsahující další příměsi, takovými roztoky jsou například roztoky zpracovávané při výrobě cukru a vedlejší produkty této výroby, lze za ně také považovat modelové roztoky sacharosy s dalšími látkami. Předchozí práce byla zaměřena na frakcionaci modelových roztoků obsahujících glukosu, fruktosu a sacharosu na diskontinuální anexové i katexové koloně. Byla provedena frakcionace i reálného roztoku – černého sirobu. Vzorky po frakcionaci byly analyzovány pomocí HPAEC/PAD. Během přípravy na tuto část byly připraveny a analyzovány kalibrační roztoky obsahující glukosu, fruktosu, sacharosu, raffinosu a betain, dále byl analyzován reálný roztok černého sirobu. Analýza byla provedena pomocí HPLC s refraktometrickou detekcí na kationtové výměnném sorbentu v Ca^{2+} formě Polymer IEX Ca (8 μm částice, 250x8 mm, Watrex, ČR) s předkolonou Hema Bio 1000Q+SB (8 μm částice, 50x8 mm, Watrex, ČR). Analýza byla zkoušena při teplotách 30 °C a 65 °C, přičemž lepší separační účinnosti bylo dosaženo při 65 °C. Preparativní separace melasy či černého sirobu se v průmyslu provádí též na katexech v Ca^{2+} formě při teplotě 80 °C. Ze srovnání s již zmíněnými analytickými měřeními je zde shoda, v plánovaných preparativních měřeních se bude vycházet s teplotou 65 °C.

Hydrotermická úprava luštěnin pro výrobu bezlepkových chlebů

Bc. Lucie Gebrtová (M1)

Školitel: Ing. Pavel Skřivan, CSc.

Při výrobě bezlepkových pekařských produktů se často uplatňují luštěniny ve formě nativních nebo upravených zrn, šrotů nebo mouk. Jednou z možností je využití semen cizrny a procesů hydrotermické úpravy. Jedná se o kombinaci vlhčení semen a následné temperace, kdy dochází k fyzikálně-chemickým a biochemickým změnám zrn, jako je absorpce vody složkami vlákniny a škrobem, zvýšení enzymové aktivity, rozvolnění komplexu vlákniny a doprovodných bioaktivních složek apod. Na základě literární rešerše byl připraven přehled metod vhodných pro charakterizaci vlastností jednotlivých komponentů chlebové směsi, tj. bezlepkové mouky a hydrotermicky připravené cizrnové zápary. Experimentální část byla změřena na pečení 4 typů bezlepkových chlebů s přídavkem cizrnové zápary. Chleby byly sensoricky zhodnoceny a v rámci hodnocení byla sledována i jejich trvanlivost. Ze zpracovaných statistických dat sensorické analýzy při porovnání se standardem byl první den testování nejnižší známkou 2,2 ohodnocen chléb s cizrnovou záparou termicky upravenou při teplotě 70 °C. Druhý den hodnocení obdržel nejnižší známku 2,2 chléb s přídavkem cizrnové zápary upravené při 50 °C. Výsledky orientační sensorické analýzy slouží jako podklad pro budoucí zpracování chlebové směsi.



Příprava polysacharidových filmů jako nosičů bioaktivních látek

Bc. Monika Nováková (M1)

Školitel: Ing. Roman Bleha, Ph.D.

Práce se zabývá přípravou filmů na bázi chitosanu. Tento polysacharid odvozený od chitinu má významné antimikrobiální, antioxidační a filmotvorné vlastnosti a také je netoxický. Filmy jsou připravovány metodou přímého odlévání v kombinaci s celulosovými nanočásticemi, které jsou připravovány kyselou hydrolýzou. Nanočástice modifikují mechanické vlastnosti. Dále jsou filmy obohacovány o biologicky aktivní látky, jakými jsou kyselina hyaluronová, diclofenak, ibuprofen nebo tramadol. Pro zlepšení mechanických vlastností je dále přidáván glycerol. Navržené filmy jsou studovány za účelem vývoje potenciálních krytů ran, které by mohly urychlit hojení a zabránit mikrobiální infekci. Cílem práce je charakterizovat vzniklé filmy a nalézt nejvhodnější kombinaci látek tak, aby byla zároveň zajištěna i optimální mechanická a tepelná odolnost těchto filmů. Důležitá je také schopnost absorbovat uvolňovanou tekutinu (exsudát), propustnost pro plyny, postupné uvolňování biologicky aktivních látek. Kryty ran by neměly příliš přilnout k pokožce, aby je bylo možné šetrně odstranit z místa aplikace.

Vývoj receptury nečokoládových cukrovinek s využitím částí léčivých rostlin

Bc. Barbora Pažoutová (M1)

Školitel: prof. Ing. Jana Čopíková, CSc.

Rostliny obsahují mnoho látek vykazujících biologickou aktivitu, díky které může mít jejich konzumace pozitivní účinek na lidský organismus. Příkladem těchto látek jsou polyfenoly, fenolové kyseliny nebo isoflavonoidy. Fenolické látky se vyznačují zejména svojí antioxidační aktivitou, tudíž mohou působit jako jistá prevence vzniku vážnějších onemocnění. Cílem této práce bylo připravit vzorky nečokoládové cukrovinky s přídavkem extraktů z vybraných léčivých rostlin, které obsahují tyto biologicky aktivní látky. Konkrétně byly připraveny vzorky fondánu s přídavkem extraktů z květů lípy velkolisté a plodů ostropestřce mariánského o dvou koncentracích. Do receptury poloviny vzorků bylo přidáno také kondenzované mléko. Připravené receptury fondánu byly podrobeny senzorické analýze, kde byly vzorky porovnány a byla diskutována jejich přijatelnost pro spotřebitele, a to z hlediska chuti, vzhledu, textury a dalších vlastností. U každého vzorku bylo hodnoceno 12 deskriptorů pomocí pětibodové stupnice. Také byl vyhodnocen vliv přídavku extraktů z léčivých rostlin a kondenzovaného mléka do receptury fondánu na jeho kvalitu a celkové senzorické vlastnosti.

Studie vlivu přídavku dračího ovoce na reologické a fyzikální vlastnosti extrudovaných výrobků

Bc. Kateřina Prokopová (M2)

Školitel: Ing. Petra Smrčková, Ph.D.

Zvyšující se nároky zákazníků vyvíjí stále větší tlak na potravinářský průmysl. Je tedy potřeba stále více experimentovat a vymýšlet kreativnější kombinace surovin, které by obstály na trhu. Výrobky z takto kombinovaných surovin nesmějí jen dobře chutnat, ale musí i dobře znít, a hlavně vypadat, protože je zákazníci nejprve koupí a až pak ochutnají. Náplní této práce byla příprava série vzorků extrudátů ze směsi kukuřičné krupice a dračího ovoce také nazývaného pitahaya roja, které má nízkokalorickou dužninu a výrazný růžový pigment. Výrobek je tak schopen zaujmout i bez použití umělých barviv. Dračí ovoce bylo přidáno ve dvou variantách – jako rozmixovaná dužnina nebo jako lyofilizovaný prášek. V obou případech byla postupně zvyšována hmotnostní koncentrace dračího ovoce (0,5-8 % w/w). Dále byl testován přídavek sladidla erythritol (2 % w/w), který může být alternativou pro osoby s diabetem. Pro vytlačování byl použit jednošnekový extrudér se šnekovnicí o kompresním poměru 3:1, otáčkách 150 min⁻¹ a průměrem kruhové dýzy 3 mm. Teplotní profil v extruzním válci byl 50/90/110/130 a 150 °C. Připravené vzorky bylo poté charakterizovány pomocí fyzikálních a reologických vlastností, aby bylo možné vliv množství přídavku objektivně posoudit.

Vývoj a hodnocení sušenek s přidavkem luštěnin

Alžběta Švingerová (M1)

Školitel: doc. Ing. Marcela Sluková, Ph.D.

Sušenky patří do skupiny trvanlivého pečiva a v současnosti jsou celosvětově konzumovány ve stále se zvyšujícím množství. Základní složkou receptury běžných sušenek je pečivářská světlá pšeničná mouka, která vykazuje nízkou nutriční hodnotu a má vysoký glykemický index. Z tohoto důvodu je cílem vývoje a výzkumu zvýšit nutriční hodnotu sušenek. Konkrétně se jednalo o přidavek luštěninové mouky do sušenkového těsta. Byly navrženy receptury na výrobu sušenek s přidavkem buď hrachové či cizrnové mouky. Dle výsledků získaných z literatury přidavek luštěnin zvyšuje obsah bílkovin a vlákniny v sušenkách a celkově zvyšuje jejich nutriční hodnotu. Nejlépe byly hodnoceny sušenky na bázi směsi pšeničné a hrachové mouky (15% přidavek hrachové mouky). S vyšším přidavkem hrachové mouky se však výrazně zhoršila chuť a vůně a celková přijatelnost sušenek byla nižší. Na základě získaných poznatků bych se v dalších výzkumech zaměřovala na senzorickou jakost sušenek zejména z hrachové mouky. Zkoušela bych různé poměry a směsi luštěninových mouk, různá ochucovadla, koření či kandované ovoce. Přídavek by však neměl negativně ovlivnit nutriční složení sušenky.

Ústav mléka, tuků a kosmetiky (322)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.

SEZNAM SEKČÍ

1. [Ústav mléka, tuků a kosmetiky - chemie a technologie tuků a kosmetiky](#)
2. [Ústav mléka, tuků a kosmetiky - chemie, technologie a mikrobiologie mléka](#)

SPONZOŘI



*Kosmetologická
společnost ČR*



MANDARIO
COMPANY



Ústav mléka, tuků a kosmetiky - chemie a technologie tuků a kosmetiky

MÍSTO: B02

KOMISE

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

doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.

doc. Ing. Jan Kyselka, Ph.D.

Ing. Markéta Berčíková, Ph.D.

Ing. Katsiaryna Alishevich

PROGRAM

09:00 zahájení

[Bc. Radek Beneš](#) (M2, doc. Ing. Jan Kyselka, Ph.D.)

Izolace, příprava a biologická aktivita cyklických peptidů

[Bc. Eliška Bečvářová](#) (M2, doc. Ing. Jan Kyselka, Ph.D.)

Vliv procesních parametrů při deodoraci na kvalitu plně rafinovaných olejů

[bc. Aleš Dvořák](#) (M2, prof. Ing. Vladimír Filip, CSc.)

Bílkovinný koncentrát z produktů zpracování olejnin.

[Bc. Adéla Ramešová](#) (M1, doc. Ing. Jan Kyselka, Ph.D.)

Produkty dekarboxylace a redukce fenolových kyselin v potravinách

[Bc. Barbora Soukupová](#) (M2, doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.)

Vliv antioxidantu na rychlost oxidace methylesterů mastných kyselin slunečnicového oleje

[Kristýna Čermáková](#) (M2, Ing. Markéta Berčíková, Ph.D.)

Antimikrobiální vlastnosti kationických tenzidů

vyhlášení výsledků

Izolace, příprava a biologická aktivita cyklických peptidů

Bc. Radek Beneš (M2)

Školitel: doc. Ing. Jan Kyselka, Ph.D.

Cyklické peptidy jsou polypeptidové řetězce s cyklickou strukturou. Mnohé z nich mají různé biologické účinky – např. antimikrobiální, imunosupresivní či protinádorové, čehož se využívá ve farmaceutickém průmyslu. V rámci této práce byly syntetizovány 4 cyklodipeptidy hydrofobního charakteru (někdy též nazývané jako 2,5-diketopiperaziny) – cyklo(L-Phe-L-Phe), cyklo(L-Leu-L-Pro), cyklo(L-Phe-L-Pro) a cyklo(L-Tyr-L-Pro). Následně byla testována a vyhodnocena jejich antimikrobiální aktivita proti kmenům bakterií *Staphylococcus aureus* CCM 4516, *Escherichia coli* CCM 4517, *Pseudomonas aeruginosa* CCM 1961 a proti kvasince *Candida albicans* CCM 8215 na spektrofotometru BioTek PowerWave XS.

Vliv procesních parametrů při deodoraci na kvalitu plně rafinovaných olejů

Bc. Eliška Bečvářová (M2)

Školitel: doc. Ing. Jan Kyselka, Ph.D.

Odkyselování je závěrečným krokem fyzikální rafinace rostlinných olejů. Je prováděna za hlubokého vakua (do 2 - 3 mbar) a vysokých teplot (220 - 250 °C), kdy dochází k destilaci volných mastných kyselin, aldehydů a ostatních těkavých sloučenin s přehřátou vodní parou. Olej získaný po odkyselování je vysoce oxidačně stabilní. V rámci experimentální práce byly analyzovány vzorky odebírané při odkyselování na poloprovozním zařízení v areálu firmy Farmet a.s.. Vstupní řepkový olej byl hluboce odslizený a adsorpčně bělený, následovalo poloprovozní odkyselování s a bez použití náplňové sekce destilační kolony – tzv. prestripperu. Jednalo se o jediný stupeň volnosti provedených zkoušek, prestripper byl osazen Pallovými kroužky o průměru 25 mm, 10 mm a prolamovaným plechem. Cílem práce bylo zjištění účinnosti deacidifikace stanovením čísla kyselosti, oxidační stabilita vzorků byla sledována pomocí peroxidového čísla, indukční periody oleje v RBD kvalitě, obsahu konjugovaných dienů a trienů, tokoferolů a fytosterolů.

Bílkovinný koncentrát z produktů zpracování olejnin.

bc. Aleš Dvořák (M2)

Školitel: prof. Ing. Vladimír Filip, CSc.

Cílem práce bylo ověřit možnosti získání sójového bílkovinného koncentrátu. Výchozím materiálem byly dodané extrudované sójové výlisky, které byly charakterizovány obsahem vlhkosti, obsahem tuku a obsahem látek obsahující dusík dle Kjeldahla. Byla provedena extrakce extrudátu pomocí roztoků fosfátového pufru o různých hodnotách pH a následné posouzení nejvhodnější hodnoty pH fosfátového pufru pro získání rafinátu o nejvyšším obsahu bílkovin a hodnocení složení extraktu.

Produkty dekarboxylace a redukce fenolových kyselin v potravinách

Bc. Adéla Ramešová (M1)

Školitel: doc. Ing. Jan Kyselka, Ph.D.

Fenolové kyseliny jsou biologicky aktivní sloučeniny hojně se vyskytující v potravinách rostlinného původu. Na povrchu rostlinných substrátů je významný výskyt bakterií mléčného kvašení (BMK), avšak fenolové kyseliny vykazují silné antimikrobiální účinky. Obranou či adaptací BMK je detoxifikace fenolových kyselin při jejich utilizaci, metabolická přeměna poskytuje redukované dihydrofenolové kyseliny či dekarboxylované deriváty 4-vinylfenolů. V této práci byla sledována mikrobiální přeměna volných fenolových kyselin vybranými kmeny *Limosilactobacillus fermentum* a *Lactiplantibacillus plantarum*. Byly sledovány produkty redukce a dekarboxylace 6 fenolových kyselin a kyseliny skořicové. Pro kvalitativní stanovení dihydrofenolových kyselin byla použita metoda GC/MS a pro kvantitativní stanovení metoda GC/FID. Výsledky potvrdily schopnost redukce polyfenolů u všech pozorovaných kmenů *L. fermentum*, stupeň přeměny byl kmenově specifický. Těkavé produkty dekarboxylace byly stanoveny technikou SPME-GC/MS. Dekarboxylace byla potvrzena v případě kyseliny ferulové a částečně u kyseliny *p*-kumarové. Obdobně jako redukce byla i dekarboxylace kmenově specifická. Kromě očekávaných těkavých metabolitů byly detekovány produkty kombinované demethylace a dehydroxylace 4-vinyl a 4-ethylguajakolu.

Vliv antioxidantu na rychlost oxidace methylesterů mastných kyselin slunečnicového oleje

Bc. Barbora Soukupová (M2)

Školitel: doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.

Cílem práce bylo připravit vhodné médium pro sledování rozsahu oxidace lipidů, kterým jsou methylestery mastných kyselin slunečnicového oleje. Pro oddělení MEMK od tokoferolů, sterolů a oxidovaných lipidů byla provedena destilace na filmové odparce (PILODIST®) za sníženého tlaku při teplotě 100, 105, 110, 115 a 120 °C. U destilovaných MEMK bylo stanoveno množství tokoferolů pomocí HPLC-FLD. Dále bylo stanoveno *p*-anisidinové číslo, obsah konjugovaných dienů a oxidační stabilita metodou Rancimat. Rovněž byly připraveny vzorky destilovaných MEMK (110, 115 a 120 °C) s 1,5 mmol·kg⁻¹ α-tokoferolem, které byly skladovány pod kyslíkovou atmosférou při teplotě 60 °C. Oxidace vzorků byla ukončena po 0, 24, 48, 120 a 144 hodinách a následně bylo stanoveno *p*-anisidinové číslo, obsah konjugovaných dienů a oxidační stabilita metodou Rancimat. Z výsledků HPLC-FLD lze pozorovat, že pomocí destilace na filmové odparce došlo k výraznému snížení obsahu tokoferolů. S přibývajícím dobou oxidace vzorků s 1,5 mmol·kg⁻¹ α-tokoferolem rostlo *p*-anisidinové číslo, obsah konjugovaných dienů, a naopak klesala indukční perioda.

Antimikrobiální vlastnosti kationických tenzidů

Kristýna Čermáková (M2)

Školitel: Ing. Markéta Berčíková, Ph.D.

Rostoucí rezistence mikroorganismů vůči antibiotikům a desinfekčním prostředkům je důvodem, proč se připravují stále nové látky, které by vykazovaly antimikrobiální účinky. Obecně se uvádí, že antimikrobiální aktivitu mají z celé skupiny tenzidů právě tenzidy kationické, konkrétně kvartérní amoniové soli (KAS). Tyto účinky mají z toho důvodu, že KAS jsou membránově aktivní látky, které jsou schopny interagovat s cytoplazmatickou membránou bakterií díky svému kladnému náboji (povrch bakteriální buňky je nabit záporně). Tato jejich vzájemná interakce umožňuje zabudování KAS do buňky mikroorganismu, následně se změní vlastnosti buňky a dojde k její lýzi. Cílem této práce je tedy připravit tříkrokovou syntézou čtyři různé KAS lišící se délkou uhlovodíkového řetězce, následně otestovat jejich antimikrobiální vlastnosti na bakteriích *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, na kvasince *Candida albicans* a na plísni *Aspergillus brasiliensis* a vzájemně je porovnat. Vstupními látkami pro tyto syntézy jsou methylestery mastných kyselin, konkrétně methylester kyseliny stearové, palmitové, myristové a laurové.

Ústav mléka, tuků a kosmetiky - chemie, technologie a mikrobiologie mléka

MÍSTO: B60-KNIOHVNÁ ÚSTAVU

KOMISE

doc. Ing. Šárka Horáčková, CSc. (předseda)

doc. Ing. Jiří Štětina, CSc.

doc. Ing. Ladislav Čurda, CSc.

Ing. Monika Kumherová, Ph.D.

Ing. Štěpán Marhons

PROGRAM

09:00 **zahájení**

[Bc. Alexandra Costiucova](#) (M2, doc. Ing. Šárka Horáčková, CSc.)

Mikrobiální kultury pro fermentované rostlinné produkty.

[Bc. Daniela Hanáková](#) (M2, doc. Ing. Šárka Horáčková, CSc.)

Charakteristika metabolismu a růstu laktobacilů v přítomnosti fenolových látek

[Bc. Anna Kozáková](#) (M1, doc. Ing. Šárka Horáčková, CSc.)

Charakteristika růstu bakterií mléčného kvašení v rostlinných substrátech

[Bc. Jan Pištěk](#) (M1, doc. Ing. Jiří Štětina, CSc.)

Modifikace textury fermentovaných mléčných výrobků.

[Bc. Irina Shakirzianova](#) (M2, doc. Ing. Ladislav Čurda, CSc.)

Příprava galaktooligosacharidů ze zahuštěné syrovátky

[Bc. Veronika Stetsenko](#) (M2, doc. Ing. Jiří Štětina, CSc.)

Vliv enzymatické modifikace složek mléka na jakost fermentovaných mléčných výrobků

[Bc. Kateřina Ábelová](#) (M2, doc. Ing. Jiří Štětina, CSc.)

Vliv modifikace bílkovin mikrobiální transglutaminásou na výrobu sýrů.

vyhlášení výsledků

Mikrobiální kultury pro fermentované rostlinné produkty.

Bc. Alexandra Costiucova (M2)

Školitel: doc. Ing. Šárka Horáčková, CSc.

Konzumace fermentovaných rostlinných produktů může být velmi přínosná pro lidi s intolerancí laktosy, a hlavně pro vegetariány a vegany. Jelikož obsahují přirozeně nebo cíleně přidané mikrobiální kultury, především bakterie mléčného kvašení, které jsou zdraví prospěšné a pomáhají vytvořit bakteriální rovnováhu v lidském střevě. V této práci byla provedena charakterizace osmi mikroorganismů izolovaných z rostlinných substrátů pro jejich další využití při přípravě fermentovaného rostlinného produktu. Byla zjištěna jejich schopnost využít cukry (glukosa, fruktosa, ribosa a maltosa) a polysacharidy, které se v těchto výrobcích mohou vyskytovat. Dále u nich byla měřena schopnost metabolizovat rostlinné glykosidy amygdalin a eskulin. Také byl porovnán růst vybraných kmenů v sójovém a mandlovém nápoji a mléce. Bylo zjištěno, že některé kmeny jsou schopné v různé míře metabolizovat polysacharidy, nejvyšší schopnost byla pozorována u kmene Lp6A, LAR a VT2. U všech osmi kmenů byla zjištěna schopnost využívat glykosidy, přičemž utilizace amygdalinu byla vyšší než eskulinu. Nebyl zjištěn rozdíl v růstu testovaných kmenů mezi mlékem a rostlinnými nápoji, po 17hodinové kultivaci při 37 °C došlo ke zvýšení koncentrace buněk v těchto médiích o 1 řád.

Charakteristika metabolismu a růstu laktobacilů v přítomnosti fenolových látek

Bc. Daniela Hanáková (M2)

Školitel: doc. Ing. Šárka Horáčková, CSc.

Fenolové látky jsou důležitými mikronutrienty, které mohou hrát významnou roli v prevenci kardiovaskulárních chorob nebo rakoviny a kterým se v posledních letech věnuje mnoho studií. Vyskytují se v potravě rostlinného původu, a to zejména v ovoci, zelenině a také v pohance. Laktobacily disponují širokým enzymovým aparátem a jsou tak schopny metabolizovat mimo jiné právě i fenolové látky. V této práci byl zkoumán vliv přídatku různých koncentrací (10–25 mmol/l) fenolových kyselin (sinapová, skořicová) do kultivačního média na růst čtyř kmenů *Limosilactobacillus fermentum* a dvou kmenů *Lactiplantibacillus plantarum* izolovaných z rostlinných substrátů. S rostoucí koncentrací kyselin se snižovala růstová rychlost bakterií. Pomocí rep-PCR byla u kmenů *L. plantarum* potvrzena přítomnost dekarboxylasy fenolových kyselin. Dále byla sledována schopnost růstu laktobacilů v pohankovém médiu. U tří z testovaných kmenů se nárůst v pohankovém médiu oproti MRS médiu řádově nelišil, u zbylých tří kmenů byl nárůst nižší o 1 řád.

Charakteristika růstu bakterií mléčného kvašení v rostlinných substrátech

Bc. Anna Kozáková (M1)

Školitel: doc. Ing. Šárka Horáčková, CSc.

S rostoucí popularitou stravy založené na rostlinné bázi se zvyšuje také zájem o rostlinné náhražky fermentovaných mléčných produktů. V práci jsou popsány druhy a vlastnosti rostlinných matric nejčastěji používaných pro tento typ výrobků. Dále jsou podrobněji charakterizovány mikroorganismy jogurtové kultury *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus bulgaricus* subsp. *delbrueckii* a druh *Lactiplantibacillus plantarum*, který má probiotické (kmen 299v), antimikrobiální a antifungální vlastnosti a snáze roste na rostlinných substrátech. Experimentální část práce je zaměřena na průzkum trhu s důrazem na složení a výživové hodnoty fermentovaných rostlinných produktů a kontrolu počtu mikroorganismů ve třinácti komerčně dostupných fermentovaných rostlinných produktech spolu se srovnáním s platnými požadavky pro mléčné fermentované výrobky. Poslední část práce je věnována orientačnímu senzorickému hodnocení čtyř rostlinných fermentovaných výrobků z různých matric, a to sóji, kokosu, ovsu a mandlí, a také porovnání sójového výrobku s mléčným jogurtem.

Modifikace textury fermentovaných mléčných výrobků.

Bc. Jan Pištěk (M1)

Školitel: doc. Ing. Jiří Štětina, CSc.

Pro zlepšení textury simulovaného fermentovaného mléčného výrobku, bylo využito enzymu mikrobiální transglutaminasy (E.C. 2.3.2.13). Enzym působil v mléce, určeném pro kyselé srážení, při konstantní teplotě 40 °C, v čase 30; 60; 90; 120 a 150 minut. Přibližná dávka enzymu byla 25 U/g bílkoviny. Mikrobiální transglutaminasa byla následně inaktivována záhřevem při 85 °C po dobu 5 minut. Kyselé srážení kaseinu bylo uskutečněno produktem hydrolýzy glukono- δ -laktonu, kyselinou glukonovou. Pomocí dynamické oscilační reometrie byl zjišťován vliv enzymu na průběh tvorby gelu. Taktéž byly zkoumány reologické vlastnosti rozmíchaného a nerozmíchaného koagulátu. Sledován byl průběh tvorby gelu, mez pevnosti, zdánlivá viskozita, koeficient konzistence a index toku. Dále byla zkoumána míra vaznosti vody gelů. Tato vyhodnocování byla učiněna pro čerstvé gely a pro gely, které byly skladovány po dobu 28 dní při teplotě $(4-5 \pm 1) ^\circ\text{C}$. Gely ošetřené mikrobiální transglutaminasou vykazovaly větší tuhost, viskozitu a větší vaznost vody, oproti neošetřeným mléčným gelům, díky nově vytvořeným kovalentním vazbám mezi glutaminovými a lysinovými zbytky bílkovin mléka, přičemž tato míra polymerace závisela na době působení enzymu.

Příprava galaktooligosacharidů ze zahuštěné syrovátky

Bc. Irina Shakirzianova (M2)

Školitel: doc. Ing. Ladislav Čurda, CSc.

Galaktooligosacharidy (GOS) jsou klasifikovány jako prebiotika, tj. látky, které jsou rezistentní vůči kyselinám a enzymům gastrointestinálního traktu a jsou selektivně využívány některými prospěšnými mikroorganismy střevní mikrobioty, což vede ke zdravotním přínosům. GOS se obvykle produkují biochemickými reakcemi z laktosy pomocí enzymu β -galaktosidasy. Cílem této práce byla příprava GOS ze zahuštěné syrovátky, jako odpadního produktu mlékárenského průmyslu. Pro provedení reakce byl použit komerční preparát enzymu β -galaktosidasy původem z kvasinek. Během reakce byla sledována koncentrace GOS v závislosti na čase, způsobu úpravy suroviny a množství přidaného enzymu. Reakcí byl získán produkt se sníženou koncentrací laktosy, obsahující proteiny, minerální látky a prebiotické sacharidy. Konečným krokem bylo použití výsledné směsi pro přípravu mléčného nápoje a jeho senzorické zhodnocení.

Vliv enzymatické modifikace složek mléka na jakost fermentovaných mléčných výrobků

Bc. Veronika Stetsenko (M2)

Školitel: doc. Ing. Jiří Štětina, CSc.

Byl sledován vliv dávky (0,1; 0,5 a 1 U/g) a způsobu aplikace mikrobiální transglutaminasy (MTG) na reologické vlastnosti jogurtu v závislosti na druhu použité kultury a době skladování. K výrobě jogurtu byla použita jogurtová kultura RX a směsná kultura *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* s prokázanou produkcí exopolysacharidů. Měření reologických vlastností jogurtu probíhalo v rotačním reometru. Na začátku měření byla stanovena mez pevnosti $\tau_{\max}$ a následně vyhodnocením sestupné tokové křivky pomocí modelu Herschel Bulkley, byly stanoveny koeficient konzistence K a index toku n . Práce dále zahrnuje stanovení vaznosti vody a senzorickou analýzu jogurtů. Výsledky měření ukázaly, že MTG měla vliv na reologické vlastnosti mléčných výrobků, tím že v podstatné míře zvyšuje mez pevnosti gelu. Dále bylo zjištěno, že u obou kultur enzym zvyšuje schopnost vázat vodu, a to jak před, tak i po skladování. Senzorická analýza ukázala, že přídavek enzymu může způsobit příliš tuhou texturu výrobku a také v některých případech nahořklou chuť.

Vliv modifikace bílkovin mikrobiální transglutaminásou na výrobu sýrů.

Bc. Kateřina Ábelová (M2)

Školitel: doc. Ing. Jiří Štětina, CSc.

Ve své práci se zabývám vlivem mikrobiální transglutaminázy na průběh tvorby gelu při enzymatickém srážení mléka. Tento vliv sleduji pomocí dynamické oscilační reometrie, pomocí pevnosti gelu a skrze množství uvolněné syrovátky za přesně definovanou dobu. U dynamické oscilační reometrie sleduji hlavně hodnoty komplexního, elastického a viskozitního modulu a fázový posun v závislosti na frekvenci a čase. Transglutamináza ovlivňuje tvorbu gelu díky tomu, že vytváří nové vazby mezi aminokyselinami v bílkovinách a peptidech, konkrétně se jedná o aminokyseliny glutamin a lysin. Nová vazba může vznikat i mezi glutaminem a primárním aminem nebo glutaminem a vodou. Tato vazba se jmenuje γ -glutamyl-lysin, někdy označována jako isopeptidová vazba. K modifikaci bílkovin pomocí transglutaminázy se využívá hlavně mikrobiální transglutamináza z toho důvodu, že pro svou aktivaci nevyžaduje vápenaté ionty v prostředí, kvůli kterým by se bílkoviny mohli vysrážet.

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



pranolab


HELAGO® CZ

 **DYNEX**

AMEDIS

distributor of  **SCIEX**

 **CHROMSERVIS**

MERCK

 **avantor**™

Sekce 1

MÍSTO: B159

KOMISE

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

doc. Dr. Ing. Marek Doležal

Ing. Zbyněk Džuman, Ph.D.

Ing. Kateřina Urbancová, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Lucie Beránková](#) (M2, Ing. Vít Kosek, Ph.D.)

Metabolomická studie atherosklerotických plátů souvisejících s odlišným klinickým důsledkem mozkové mrtvice

09:20 [Kateřina Bursová](#) (B3, Ing. Zbyněk Džuman, Ph.D.)

Mykotoxiny v bezlepkových moukách z českého trhu

09:40 [Hana Bártová](#) (M2, Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.)

Analýza perfluoralkylovaných sloučenin v mateřském mléce

10:00 [Bc. Barbora Bílová](#) (M1, Ing. Vojtěch Ilko, Ph.D.)

Vznik senzoricky aktivních látek z tuků během procesu fritování

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

Charakterizace ochucujících omáček pomocí infračervené spektrometrie.

10:40 [Bc. Antonín Hanuš](#) (M2, doc. Dr. Ing. Marek Doležal)

Nutriční a senzorické hodnocení alternativ sýrů a smetan

11:00 [Bc. Eliška Havlanová](#) (M1, prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.)

Zhodnocení kontaminace rezidui pesticidů a akutních rizik spojených s konzumací vybraných druhů zeleniny

11:20 [Bc. Petr Hrubý](#) (M2, doc. Ing. Milena Stránská, Ph.D.)

Vliv pulzního elektrického pole na hladiny mykotoxinů ve sladovnickém ječmeni

Metabolomická studie atherosklerotických plátů souvisejících s odlišným klinickým důsledkem mozkové mrtvice

Bc. Lucie Beránková (M2)

Školitel: Ing. Vít Kosek, Ph.D.

Atheroskleróza je chronické zánětlivé onemocnění, které je charakterizováno akumulací lipidů ve stěnách středních a velkých tepen za vzniku atherosklerotických plátů. Hlavní příčinou této akumulace jsou zvýšené hladiny lipoproteinů o nízké hustotě (LDL) v krvi nejčastěji v důsledku dyslipidémie. Skladba atherosklerotických plátů se v čase mění a prochází různými stádii. Vysoké riziko pro lidský organismus představuje poslední stadium atherosklerózy, kdy plát může být nestabilní, a tak může dojít k jeho prasknutí nebo i jen odtržení jeho části za vzniku krevní sraženiny (trombu). Ta následně ucpe tepnu a dochází tak k infarktu myokardu nebo cévní mozkové příhodě. To v nejhorších případech vede až k úmrtí. Vznik atherosklerotických plátů úzce souvisí s lipidy, neboť jsou obsaženy jak v lipoproteinech, tak v atherosklerotických plátech. Proto je lipidomika společně s metabolomikou velmi vhodným nástrojem pro jejich studium. Tato práce se zaměřuje na charakterizaci lipidomu a metabolomu asymptomatických a symptomatických atherosklerotických plátů s různým klinickým průběhem cévní mozkové příhody při využití vysokoúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostní spektrometrií a následného zpracování dat pomocí vícerozměrných statistických metod.

Mykotoxiny v bezlepkových moukách z českého trhu

Kateřina Bursová (B3)

Školitel: Ing. Zbyněk Džuman, Ph.D.

Alternativní mouky nacházejí v současné době stravovacích trendů větší a větší oblibu nejen u celiaků, ale i u většinové populace snažící se žít zdravým životním stylem nebo u lidí vyhledávajících nové netradiční suroviny. Podobně jako u cereálních mouk může docházet ke kontaminaci mykotoxiny, toxickými sekundárními metabolity mikroskopických vláknitých hub, již ve fázi růstu a zpracování plodiny nebo při následném skladování. Avšak na rozdíl od běžných mouk obsahujících lepek, jsou tyto mouky na úrovni EU regulovány pouze v případě kukuřice. V této práci jsem sledovala obsah mykotoxinů ve vybraných bezlepkových moukách z českého trhu zahrnující jak pseudocereální mouky jako čirokovou, amaranthovou nebo pohankovou, tak i velmi netradiční druhy jako konopnou, ostropestřecovou atd. Pomocí zavedené analytické metody pro stanovení 57 mykotoxinů, kombinující modifikovanou metodu extrakce QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged, safe) a ultra-účinnou kapalinovou chromatografii s tandemovou hmotnostní spektrometrií (U-HPLC–HRMS/MS), jsem detekovala 19 mykotoxinů, nejčastěji alternariové mykotoxiny. Celkově byla kontaminace nadprůměrná, u několika vzorků byl stanoven i ochratoxin A a aflatoxin B1 na hladinách, které by se v případě obilnin považovaly za nadlimitní.

Analýza perfluoralkylovaných sloučenin v mateřském mléce

Hana Bártová (M2)

Školitel: Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.

Per- a polyfluoralkylované sloučeniny (PFAS) jsou látky antropogenního původu, které jsou díky svým vlastnostem používány v průmyslu a komerčních výrobcích. Patří mezi perzistentní environmentální kontaminanty a představují zdravotní riziko pro člověka, který je jimi exponován především dietární cestou. PFAS jsou v rámci humánního biomonitoringu analyzovány v krevním séru a mateřském mléce, které je hlavním dietárním zdrojem pro kojence. Cílem práce bylo zjistit zastoupení a množství PFAS v mateřském mléce žen z České republiky (n=164) a odhadnout expozici kojenců. PFAS byly extrahovány acetonitrilem, po přidavku anorganických solí byl acetonitrilový extrakt přečištěn disperzní extrakcí na tuhou fázi se sorbentem C18. Identifikace/kvantifikace látek byla ultra-účinnou kapalinovou chromatografií s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Z celkem 33 cílových PFAS byl nejčastěji detekován perfluoroktanoát (PFOA) a perfluoroktansulfonát (PFOS) ve více než 90 % vzorků a perfluornonanoát (PFNA) v 50 % vzorků, mediány koncentrací pro tyto látky byly 0,021, 0,014 a 0,003 ng/ml. Odhadnutý týdenní příjem pro medián koncentrací téměř 8× překračuje tolerovatelný týdenní příjem stanovený Evropským úřadem pro bezpečnost potravin pro sumu 4 PFAS (perfluohexansulfonát, PFOS, PFOA a PFNA).

Vznik senzoricky aktivních látek z tuků během procesu fritování

Bc. Barbora Bílová (M1)

Školitel: Ing. Vojtěch Ilko, Ph.D.

Smažení je jednou z nejpobulárnějších kulinárních úprav potravín. Při této úpravě probíhají v oleji tři typy reakcí, a to oxidační, hydrolytické a polymerační. Produkty těchto reakcí jsou žádoucí i nežádoucí senzoricky aktivní látky přispívající ke smaženému aroma, ale také látky s nežádoucím účinkem na zdraví a procesní kontaminanty. Typické smažené aroma tvoří zejména produkty autooxidace kyseliny linolové. Výběr vhodného oleje pro smažení významně ovlivňuje kvalitu smažené potraviny, ale také její senzorickou jakost. Pro smažení jsou vhodné oleje s vyšším obsahem monoenových mastných kyselin, které zajišťují oxidační stabilitu oleje, a nižším obsahem polyenových mastných kyselin. Tato práce se zabývá charakterizací smaženého aroma a látek, které přispívají k jeho vývoji. V rámci experimentální části práce byly analyzovány vzorky tepelně namáhaného řepkového, slunečnicového a palmového oleje. U těchto rostlinných olejů bylo sledováno zastoupení jednotlivých těkavých látek ovlivňujících aroma smažicího oleje. Těkavé látky byly extrahovány ze vzorků olejů a následně analyzovány olfaktometrickým detektorem.

Charakterizace ochucujících omáček pomocí infračervené spektrometrie.

Bc. Jan Flodr (M2)

Školitel: prof. Dr. Ing. Jan Poustka

Omáčkou rozumíme typicky produkt, který dodává pokrmu unikátní vlastnosti ovlivňující celkový požitek. Omáčky pomáhají pokrm dochutit způsobem, který by bez nich nebyl možný. Do skupiny ochucujících omáček můžeme zařadit takové výrobky, které jsou těžko připravitelné v kuchyni a jsou tedy nejčastěji pořizovány z trhu. Pojem ochucující omáčky je velmi široký a zahrnuje celou řadu produktů, například kečup, rybí omáčku, barbecue omáčku či sójovou omáčku. Vzhledem k stručnosti legislativy týkající se ochucujících omáček existuje snaha o vývoj takové metody, která by byla schopná charakterizace složení těchto výrobků. Infračervená spektrometrie ve střední oblasti s Fourierovou transformací za použití techniky ATR (ATR-FTIR) by mohla být díky její jednoduchosti a rychlosti vhodnou metodou. Ve spojení se správnou statistickou metodou (např. PCA) je tato technika schopná tvorby modelů použitelných pro kontrolu autenticity celé řady výrobků. Cílem této práce je zhodnocení vhodnosti ATR-FTIR pro charakterizaci kečupů, barbecue omáček a chilli omáček a také pro kontrolu jejich autenticity pomocí profilovacích metod využívajících multivariační analýzu dat.

Nutriční a senzorické hodnocení alternativ sýrů a smetan

Bc. Antonín Hanuš (M2)

Školitel: doc. Dr. Ing. Marek Doležal

Mléko je sekret mléčné žlázy samic savců určený k prvotní výživě jejich mláďat. Ačkoli mléko a výrobky z něj stále zauímají přední místo ve spotřebním koši, od začátku nového milénia dochází k obrovskému rozmachu jejich alternativ rostlinného původu, které jsou vyráběny z širokého spektra rostlinných zdrojů – z cereálií, ořechů, semen nebo luštěnin. Důvodů, proč stále více lidí vyhledává tyto produkty, je více. Uvést lze například laktózovou intoleranci, alergii na bílkovinu kravského mléka, rostoucí trend veganství, vitariánství, frutariánství a dalších alternativních způsobů stravování nebo také v současnosti stále diskutovanější obavy lidí o životní prostředí. Ačkoli mohou tyto výrobky zdařile imitovat vzhled, výrobků živočišných, z nutričního hlediska se jedná o zcela odlišné potraviny. Cílem laboratorního projektu bylo se seznámit s nejrůznějšími rostlinnými zdroji alternativ smetan a sýrů. Cílem experimentální části práce pak bylo nakoupit na českém trhu rostlinné alternativy smetan a sýrů, zhodnotit jejich nutriční a senzorické vlastnosti, a objektivně tyto výsledky porovnat s výrobky z kravského mléka. Obsah tuku byl stanoven vhodnými extrakčními metodami, složení mastných kyselin metodou GC/FID. Obsah bílkovin v jednotlivých výrobcích by stanoven metodou dle Kjeldhala.

Zhodnocení kontaminace rezidui pesticidů a akutních rizik spojených s konzumací vybraných druhů zeleniny

Bc. Eliška Havlanová (M1)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Zájem spotřebitelů o potraviny označené logem „Bio“ stále narůstá. Důvody a motivace ke koupi biopotravin jsou velmi různorodé, převážně se může jednat o preferenci „zdravého“ životního stylu, jehož součástí je konzumace hodnotných potravin produkovaných bez použití pesticidů. V rámci práce byla provedena analýza reziduí pesticidů v 90 vzorcích zeleniny pocházející jak z České republiky, tak ze zahraničí. Konkrétně se jednalo o 30 vzorků špenátů, 30 vzorků rajčat a 30 vzorků paprik. Kromě vybraných druhů zeleniny pocházející z konvenčního i ekologického zemědělství, byla vybrána také zelenina pěstovaná hydroponicky. Pro izolaci reziduí pesticidů z vybraných vzorků zeleniny byla využita extrakční metoda QuEChERS, získaný acetonitrilový extrakt byl poté analyzován pomocí ultraúčinné kapalinové chromatografie spojenou s tandemovou hmotnostně spektrometrickou detekcí. Multireziduální metoda zahrnovala 393 analytů. Stanovené hladiny reziduí pesticidů ve vzorcích byly následně porovnány s definovanými legislativními limity. Míra kontaminace vzorků špenátů a paprik byla vyšší ve srovnání se vzorky rajčat. Vyjma stanovení reziduí pesticidů byla prostřednictvím modelu PRIMo také hodnocena rizika akutní toxicity, pro děti a dospělé, spojená s příjmem reziduí pesticidů v zelenině.

Vliv pulzního elektrického pole na hladiny mykotoxinů ve sladovnickém ječmeni

Bc. Petr Hrubý (M2)

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

Mykotoxiny často kontaminují širokou škálu potravinářských rostlinných komodit. Vzhledem k jejich prokázané toxicitě jsou hledány nové technologie zajišťující jejich minimalizaci. Jednou z možností, jak šetrně snížit jejich hladiny v potravinářských surovinách za současného zachování požadované kvality, je použití metody pulzního elektrického pole (PEF). Zatím však existuje pouze omezené množství publikací, kde byla prokázána degradace mykotoxinů po aplikaci PEF. Cílem této práce bylo zhodnocení vlivu technologie PEF za různých podmínek na obsah mykotoxinů přítomných ve sladovnickém ječmeni. Extrakce mykotoxinů byla provedena modifikovanou metodou QuEChERS a jejich následná analýza proběhla pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií v tandemovém uspořádání (U-HPLC-HRMS/MS). Působením oplachu a PEF byl obsah mykotoxinů v ječmeni zredukován na 4–30 % původní kontaminace. Nejvyšší míra redukce mykotoxinů byla pozorována v případě beauvericinu, zearalenonu, enniatinu A1 a enniatinu A.

Sekce 2

MÍSTO: B 31

KOMISE

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

Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.

Ing. Michal Stupák, Ph.D.

Ing. Marie Zlechovcová, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Veronika Jurášková](#) (M1, prof. Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D.)

Monitoring organofosfátových zpomalovačů hoření v plastových výrobcích

09:20 [Bc. Magdaléna Juziková](#) (M2, prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.)

Pohanka: rizikové i zdraví prospěšné složky

09:40 [Bc. Veronika Kalinová](#) (M1, Ing. Marie Zlechovcová, Ph.D.)

Optimalizace metody pro stanovení fytoKANABINOIDŮ v konopí a konopných produktech

10:00 [Bc. Eliška Kopecká](#) (M2, Ing. Kateřina Urbancová, Ph.D.)

Analýza metabolitů polycyklických aromatických uhlovodíků a organických UV-filtrů v moči české populace

10:20 [Bc. Alexandra Lacinová](#) (M2, prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.)

Screening biologicky aktivních látek v rostlinných extraktech

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

Výskyt toxických rostlinných alkaloidů v herbálních čajích

11:00 [Bc. Eva Ludvíčková](#) (M1, Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.)

Stanovení reziduí fosetylu a kyseliny fosforité v drobném červeném ovoci

vyhlášení výsledků

Monitoring organofosfátových zpomalovačů hoření v plastových výrobcích

Bc. Veronika Jurášková (M1)

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

Organofosfátové zpomalovače hoření (OPFR) jsou přidávány do různých polymerních materiálů a výrobků z nich (např. elektronika, syntetický textil) za účelem zabránění či zpomalení vzniku požáru. Vlivem recyklace plastových materiálů se však mohou OPFR dostat i do výrobků, kde jejich výskyt není žádoucí (např. hračky, plastové kuchyňské potřeby). Vzhledem k potenciálně toxickým účinkům OPFR (např. karcinogenita, neurotoxicita) je potřeba tyto látky monitorovat. Cílem této práce bylo stanovení 15 zástupců OPFR v 73 vzorcích (40 hraček, 4 kuchyňských pomůcek a 29 dalších předmětů běžného užití) z tržní sítě Ruska, Číny a Indonésie. Vzorky byly poskytnuty ve spolupráci s neziskovou organizací Arnika. K izolaci cílových látek byla použita trojnásobná extrakce směsí hexan:dichlormethan (4:1, v/v) podpořená ultrazvukem. Instrumentální analýza OPFR byla provedena za pomoci ultra-účinné kapalinové chromatografie spojené s tandemovou hmotnostní spektrometrií typu trojitý kvadrupól. V nejvyšších koncentracích byl ve vzorcích detekován trifenylofosfát (TPhP; <0,5 – 58 000 ng/g) a tris(1-chlor-2-propyl)fosfát (TCIPP; 28,2 – 44 600 ng/g). Nejbohatší profil byl pozorován ve vzorku lepicí pásky, kde bylo detekováno celkem 13 OPFR.

Pohanka: rizikové i zdraví prospěšné složky

Bc. Magdaléna Juziková (M2)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Pseudocereálie pohanka obecná (lat. *Fagopyrum esculentum Moench*) je nutričně významná a zdraví prospěšná funkční potravina. Její zařazení do jídelníčku je benefitní nejen pro celiaky, ale pro konzumenty obecně, protože je zdrojem některých vitaminů, minerálních i bioaktivních látek jako je například rutin. Ten má příznivý vliv na pružnost cév a využitelnost vitaminu C. I přes výskyt zdraví prospěšných látek představuje pohanka „rizikovou“ komoditu z pohledu možné kontaminace tropanovými alkaloidy. Při sklizni může totiž snadno docházet k její kontaminaci nejen částmi plevelnatých rostlin, které tyto toxické sekundární metabolity produkují, ale také jejich semeny. V posledních letech se na zmíněné rostlinné alkaloidy, jako na potenciální kontaminanty potravin, zaměřuje významná pozornost vědeckých týmů i Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA). Pro zhodnocení prospěšnosti i rizika konzumace pohanky byly v rámci prezentovaného projektu analyzovány běžně dostupné výrobky z tržní sítě ČR. Pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií byl současně sledován obsah rutinu a tropanových alkaloidů ve vybraném souboru vzorků. Stanovené hladiny cílových analytů byly srovnány s nově přijatými maximálními limity na úrovni EU.

Optimalizace metody pro stanovení fytoKANABINOIDŮ v konopí a konopných produktech

Bc. Veronika Kalinová (M1)

Školitel: Ing. Marie Zlechovcová, Ph.D.

FytoKANABINOIDY představují sekundární metabolity rostlin konopí (*Cannabis sativa* L.), které vykazují různé biologické aktivity a jsou proto velmi ceněné nejen v medicíně, ale i v potravinářství nebo kosmetickém průmyslu. Doposud bylo objeveno více než 200 zástupců, z nichž je nejznámější KANABIDIOL (CBD) a psychotropní Δ^9 -tetrahydroKANABINOL (Δ^9 -THC). Strukturně mohou být fytoKANABINOIDY zásadně odlišné, může se ale také jednat o pouhé izomery. Takové molekuly komplikují analytické stanovení, jelikož od sebe mohou být obtížně separovatelné. Tato práce je zaměřena na optimalizaci metody stanovení fytoKANABINOIDŮ pomocí ultraúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-HRMS/MS). První část se zabývá nastavením vhodné normalizované fragmentační energie (NCE) s cílem dosáhnout lepší selektivity při detekci izomerních fytoKANABINOIDŮ. V druhé části byla optimalizována metoda kapalinové chromatografie, kde byla pozornost věnována zejména separaci kritického páru dvou izomerních látek Δ^8 -THC a CBL. Pro tento účel byly testovány 4 kolony, a to YMC-Triart C18, YMC-Triart C18 ExRS, Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 a Ascentis® Express C18.

Analýza metabolitů polycyklických aromatických uhlovodíků a organických UV-filtrů v moči české populace

Bc. Eliška Kopecká (M2)

Školitel: Ing. Kateřina Urbancová, Ph.D.

Pro zhodnocení zátěže lidského organismu kontaminujícími látkami je využívána analýza biomarkerů. V této práci bylo sledováno 10 organických UV-filtrů a 11 metabolitů polycyklických aromatických uhlovodíků (OH-PAU) v moči matek a jejich novorozenců z Karviné a Českých Budějovic (n = 494). Pro stanovení těchto látek byla použita analytická metoda zahrnující enzymatickou hydrolýzu, extrakci typu kapalina-kapalina (ethylacetát), přečištění (sorbent Z-Sep) a separaci a kvantifikaci ultra-účinnou kapalinovou chromatografií s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Ve všech analyzovaných vzorcích moči byl stanoven naftalen-2-ol, fluoren-2-ol, fenathren-2-ol a benzofenon-1. Naopak v žádném vzorku moči nebyl nalezen chrysen-6-ol, benzo(a)pyren-3-ol, 4-methylbenzylidenkafr a 3-benzylidenkafr. Na nejvyšších hladinách z OH-PAU byl nalezen naftalen-2-ol (medián 5,77 ng/ml moči) a z UV-filtrů benzofenon-3 (medián 6,29 ng/ml moči). V moči novorozenců z Českých Budějovic byl stanoven medián koncentrace sumy OH-PAU 4× nižší a medián koncentrace sumy UV-filtrů 2× nižší než v moči jejich matek. Medián koncentrace sumy OH-PAU v moči karvinských novorozenců byl 1,5× nižší oproti nálezům v moči jejich matek. Medián koncentrace sumy UV-filtrů v moči karvinských novorozenců a jejich matek byl srovnatelný.

Screening biologicky aktivních látek v rostlinných extraktech

Bc. Alexandra Lacinová (M2)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Extrakty „léčivých bylin“ obsahují řadu bioaktivních sekundárních metabolitů s rozmanitými účinky na organismus. Některé bioaktivní látky mohou inhibovat lipolýzu. Zvýšená míra lipolýzy v adipocytech vede k vysokým hladinám volných mastných kyselin v séru, které jsou spojovány s nežádoucími metabolickými efekty. Inhibice lipolýzy představuje potenciální terapeutický přístup například pro léčbu inzulinové rezistence. Cílem této práce, realizované v rámci společného projektu s 3. lékařskou fakultou Univerzity Karlovy, byla optimalizace metody pro stanovení bioaktivních látek v extraktech rostlin pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostní spektrometrií. Pro optimalizaci metody byla použita komerční knihovna Phytotitre obsahující extrakty z 400 rostlin, ze které byly připraveny směsné vzorky obsahující 40 vybraných extraktů. Testovány byly tři typy analytických kolon, kolona s reverzní fází a dva typy HILIC kolony. Pro zlepšení separace analytů byl optimalizován gradient mobilní fáze. Kolona s reverzní fází byla zvolena jako nejvhodnější pro stanovení bioaktivních látek. Testována byla také různá extrakčních rozpouštědla pro izolaci bioaktivních látek z ženšenu a korkovníku, jelikož byly u těchto rostlin popsány anti-lipolytické účinky.

Výskyt toxických rostlinných alkaloidů v herbálních čajích

Bc. Ludmila Landová (M2)

Školitel: Ing. Zbyněk Džuman, Ph.D.

Pyrrolizidinové (PA) a tropanové alkaloidy (TA) jsou sekundární metabolity rostlin, které je produkují zejména jako ochranu proti škůdcům a býložravcům. Do herbálních čajů, stejně jako do dalších komodit (koření, cereálie), se dostávají především při sklizni. V poslední době je kontaminaci potravin těmito alkaloidy věnovaná značná pozornost kvůli jejich prokázaným toxickým účinkům. V rámci této práce byl proveden screening přítomnosti PA a TA v 16 vzorcích herbálních čajů z běžné tržní sítě, a to metodou ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií. V žádném ze vzorků nebyly detekovány TA a koncentrace PA splňovala legislativní limity (200 a 400 µg/kg). Na vzorku, který obsahoval největší množství PA (146 µg/kg intermedinu), byl v navazujícím kroku zkoumán přestup PA do výluhů čaje za různých podmínek (extrakce studenou a teplou vodou a extrakce teplou vodou s ethanolem), aby byly demonstrovány běžné postupy při přípravě čaje konzumenty.

Stanovení reziduí fosetylu a kyseliny fosforité v drobném červeném ovoci

Bc. Eva Ludvíčková (M1)

Školitel: Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.

Fosetyl je pesticid používaný jako fungicid ke kontrole různých chorob na potravinářských a krmných plodinách. V průběhu času může fosetyl degradovat na kyselinu fosforitou a její soli. Z tohoto důvodu je maximální limit rezidua (MRL) fosetylu vyjádřen jako suma fosetylu, kyseliny fosforité a jejích solí. Vzhledem k tomu, že se jedná o fungicid, je fosetyl často aplikován na jahody, maliny a další drobné červené ovoce. Proto je poměrně problematické sehnat „blankovou“ matici, která by mohla být použita pro přípravu matriční kalibrace. Cílem práce bylo zjistit, zda je vhodné použít rozpouštědlovou kalibraci namísto matriční, případně použít pouze jednu matriční kalibraci pro analýzu fosetylu a kyseliny fosforité ve více různých maticích tohoto typu. Pro přípravu vzorků byla využita metoda pro stanovení polárních pesticidů – metodika QuPPE, jako analytická koncovka byla použita vysokoúčinná kapalinová chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-MS/MS). Metoda byla dle kritérií dokumentu SANTE 12682/2019 úspěšně validována pro analyty fosetyl a kyselina fosforitá při použití matriční kalibrace připravené z jahod, třešní a rybízu. Použití rozpouštědlové kalibrace se ukázalo jako nevhodné. Korekce využitím izotopově značených standardů nebyla dostatečná.

Sekce 3

MÍSTO: B 34

KOMISE

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

doc. Dr. Ing. Karel Cejpek

Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.

Ing. Beverly Hradecká, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

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

Analýza volných a vázaných mykotoxinů ve sladech různého původu

09:20 [Bc. Jan Nebáznivý](#) (M2, Ing. Dana Schusterová, Ph.D.)

Výskyt reziduí pesticidů v čerstvých a sušených houbách.

09:40 [Bc. Chi Mai Nguyenová](#) (M1, prof. Dr. Ing. Jan Poustka)

Charakterizace složení jedlých olejů pomocí infračervené spektrometrie

10:00 [Bc. Kateřina Pavlová](#) (M2, Ing. Beverly Hradecká, Ph.D.)

Využití pulzního elektrického pole jako nástroj pro zvýšení extraktability nutrientů ze zeleniny

10:20 [Bc. Michaela Pitrová](#) (M1, doc. Dr. Ing. Věra Schulzová)

Metody stanovení celkových fenolických látek a antioxidační aktivity v zelenině

10:40 [Bc. Hana Pírová](#) (M1, Ing. Beverly Hradecká, Ph.D.)

Vakuové smažení – alternativní technologie pro přípravu zdravějších zeleninových lupínků

11:00 [Bc. Michaela Schreibmeierová](#) (M2, doc. Dr. Ing. Věra Schulzová)

Vliv zpracování a skladování zeleniny na hladiny bioaktivních látek

vyhlášení výsledků

Analýza volných a vázaných mykotoxinů ve sladech různého původu

Bc. Kateřina Malá (M1)

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

Některé fáze technologie sladařství (zejména máčení a klíčení zrn) probíhají za podmínek, které jsou zároveň vhodné pro růst mikromycet, což může vést ke kontaminaci sladu mykotoxiny. Stanovení obsahu mykotoxinů ve sladech může být významně ovlivněno matričními efekty (tj. ovlivnění míry ionizace analytů), které souvisí s přítomností interferujících matričních sloučenin. U tmavých speciálních sladů můžeme tento efekt připsat např. melanoidinům a dalším produktům Maillardovy reakce vznikajícím ve vyšší míře díky intenzivnějšímu a delšímu pražení. Cílem této práce bylo zhodnocení kontaminace světlých a tmavých sladů mykotoxiny a posouzení matričních efektů. Extrakce mykotoxinů byla provedena modifikovanou metodou QuEChERS a jejich analýza proběhla pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie a vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie. Ve vzorcích bylo stanoveno deset mykotoxinů, na nejvyšších koncentračních hladinách se vyskytovaly zejména tzv. „emerging“ (nově se objevující) mykotoxiny enniatin B a enniatin B1, avšak detekovány byly i další fusariové a také alternariové mykotoxiny. U všech stanovených mykotoxinů bylo pozorováno potlačení ionizace vlivem matričních složek sladů, které bylo silnější u tmavých sladů (potlačení signálu o 15–85 %) oproti sladům světlým (6–32 %).

Výskyt reziduí pesticidů v čerstvých a sušených houbách.

Bc. Jan Nebáznivý (M2)

Školitel: Ing. Dana Schusterová, Ph.D.

Houby jsou potravinou tradičně konzumovanou českými spotřebiteli. Jsou vyhledávány zejména pro své specifické senzorycké vlastnosti, též jsou zdrojem vitaminů skupiny B a D, minerálních prvků a vlákniny. Při produkci hub však může docházet k aplikaci pesticidů k ochraně proti škůdcům a plísním. Vzhledem k tomu, že jejich rezidua mohou představovat potenciální riziko pro konzumenty, jsou jejich hladiny v potravinách v Evropské unii legislativně regulovány. Cílem této práce bylo validovat metodu pro stanovení reziduí pesticidů v čerstvých a sušených houbách, vyšetřit soubor vzorků hub na výskyt reziduí pesticidů a sledovat osud reziduí pesticidů při sušení hub. Vzorky hub byly extrahovány metodou QuEChERS a analyzovány s využitím ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Metoda byla validována pro 344 analytů na hladině 0,002 mg/kg a 379 analytů na hladině 0,02 mg/kg pro matrici čerstvých hub a 344 analytů na hladině 0,02 mg/kg a 369 analytů na hladině 0,2 mg/kg pro matrici sušených hub, a to v souladu s požadavky uvedenými v dokumentu Evropské komise SANTE 12682/2019. Vzorky čerstvých hub byly zakoupeny v české obchodní síti a v rámci realizované studie byly houby analyzovány jak čerstvé, tak i sušené ($T = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 12 hodin).

Charakterizace složení jedlých olejů pomocí infračervené spektrometrie

Bc. Chi Mai Nguyenová (M1)

Školitel: prof. Dr. Ing. Jan Poustka

Jedlé rostlinné oleje jsou typickou součástí lidské stravy. Tyto oleje jsou používány nejen při tepelných úpravách, ale i pro studenou kuchyni. Na trhu jsou k dispozici různé druhy olejů, např. olivový, slunečnicový, řepkový a sójový, které se liší ve svém složení jako zastoupení a množství mastných kyselin, zejména nenasycených. V této práci byla aplikována metoda měření zeslabeného úplného odrazu ve střední oblasti infračerveného spektra s Fourierovou transformací (ATR-FTIR) pro charakterizaci složení rostlinných olejů. K analýze byly použity vzorky slunečnicového, řepkového, sójového, olivového oleje z pokrutin a také směsi slunečnicového a řepkového oleje, které byly zakoupeny v tržní síti. Byla vytvořena řada modelových směsí pro slunečnicový a řepkový olej. Pro zakoupený vzorek směsného řepkového a slunečnicového oleje bylo následně pomocí statistických metod zhodnoceno jeho složení.

Využití pulzního elektrického pole jako nástroj pro zvýšení extraktability nutrientů ze zeleniny

Bc. Kateřina Pavlová (M2)

Školitel: Ing. Beverly Hradecká, Ph.D.

Cílem této práce bylo zkoumat vliv inovativní technologie pulzního elektrického pole (PEF) na extraktabilitu nutrientů a biologicky aktivních látek v mrkvi. Byly testovány různé počty pulzů (20, 60 a 100) při konstantním nastavení elektrického pole (3 kV). Ošetřená mrkev byla odšťavněna. V získané šťávě a výliscích (ošetřených a neošetřených vzorků) byl stanoven obsah cukru (glukóza, fruktóza a sacharóza) a karotenoidů (α - a β -karoten, lutein) stanovených bez hydrolýzy. Předběžné výsledky poukazují na to, že se zvyšujícím se počtem pulzů při konstantním nastavení elektrického pole nedošlo k významnému zvýšení extraktability obsahu cukrů ani karotenoidů v mrkvové šťávě.

Metody stanovení celkových fenolických látek a antioxidační aktivity v zelenině

Bc. Michaela Pitrová (M1)

Školitel: doc. Dr. Ing. Věra Schulzová

Antioxidanty jsou látky chránící před oxidací, čímž zabraňují nežádoucím pochodům v potravinách a surovinách. Bohatým zdrojem antioxidantů je ovoce a zelenina. V rámci této práce bylo sledováno množství antioxidantů a celkový obsah fenolických látek v některých druzích zeleniny (rajčata, špenát, hrášek a mrkev) a jejich změny vlivem kulinářských úprav a skladování. K posouzení schopnosti antioxidantů odbourávat radikály je používáno velké množství metod stanovení antioxidační aktivity. V rámci této práce byly využity metody DPPH a ABTS. Mezi antioxidanty patří také fenolické látky, jejichž celkový obsah (total phenolic content) byl stanoven Folin-Ciocalteuovou metodou. Ve všech uvedených případech se jedná o spektrofotometrické metody, kde měřeným signálem je absorpance roztoku. Cílem práce byla validace těchto metod a jejich aplikace při měření reálných vzorků. Výsledky měření byly následně vzájemně porovnány a diskutovány s daty uvedenými v literatuře.

Vakuové smažení – alternativní technologie pro přípravu zdravějších zeleninových lupínků

Bc. Hana Pírová (M1)

Školitel: Ing. Beverly Hradecká, Ph.D.

V dnešní době se stávají stále žádanějšími zeleninové lupínky prezentované jako zdravější alternativa smažených bramborových lupínků. Tyto produkty však mnohdy obsahují až několikanásobně vyšší obsah akrylamidu nežli klasické bramborové lupínky. To je způsobeno vyšším obsahem redukcujících cukrů – jedním z hlavních prekurzorů vzniku akrylamidu. Akrylamid je procesní kontaminant vznikající v Maillardově reakci již při teplotě 120 °C a je klasifikovaný IARC jako pravděpodobný lidský karcinogen skupiny 2A. Cílem této práce bylo proto prezentovat potenciál vakuového smažení, jakožto alternativní technologie ke konvenčnímu smažení, kde díky nízkému tlaku (10 kPa) je možné lupínky usmažit při nižších teplotách. Pro vakuové smažení byla zvolena teplota 120 °C a doba 4, 5 a 6 min. Při konvenčním smažení byla použita teplota 165 °C a doba 1; 1,5 a 2 min. V těchto lupíncích byl poté stanoven obsah akrylamidu, vody (parametr určující mikrobiální údržnost lupínků) a tuku. Senzorickému hodnocení byly podrobeny mrkvové lupínky, jejichž obsah vody byl kolem 2,5 %, což zajišťuje jejich údržnost.

Vliv zpracování a skladování zeleniny na hladiny bioaktivních látek

Bc. Michaela Schreibmeierová (M2)

Školitel: doc. Dr. Ing. Věra Schulzová

Zelenina je skvělým zdrojem zdraví prospěšných látek jako jsou vitaminy, minerály a antioxidanty. Zelenina nepatří mezi trvanlivé potraviny a proto, aby byla prodloužena doba, po kterou ji lze konzumovat, je potřeba zvolit vhodnou formu zpracování nebo skladování při nižších teplotách. Je dobře známo, že při zpracování a skladování zeleniny dochází ke ztrátě biologicky aktivních látek. Studie změn v obsahu těchto látek nám poté mohou pomoci při výběru takových podmínek zpracování a skladování, při kterých bude obsah těchto látek maximálně zachován. V rámci experimentu byl analyzován čerstvý a mražený špenát, hrášek a mrkev. Hlavními parametry pro kontrolu kvality zeleniny byly hladiny karotenoidů, tokoferolů, chlorofylu a askorbové kyseliny. Pro stanovení karotenoidů a askorbové kyseliny byla použita metoda HPLC-DAD, pro stanovení tokoferolů metoda HPLC-FLD, chlorofyl byl stanoven spektrofotometricky.

Sekce 4

MÍSTO: B 33

KOMISE

prof. Dr. Ing. Jan Poustka (předseda)

Ing. Vít Kosek, Ph.D.

doc. Dr. Ing. Zdeňka Panovská

Ing. Monika Tomaniová, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Kamila Sirotková](#) (M2, Ing. Michal Stupák, Ph.D.)

Hodnocení autenticity šafránu pomocí techniky plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií

09:20 [Bc. Barbora Skalníková](#) (M2, Ing. Marie Zlechovcová, Ph.D.)

Studium fytkanabinoidů a jejich metabolitů v mozkové tkáni

09:40 [Kateřina Sonntag](#) (B3, prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.)

Studium vlivu krmiva na metabolom jedlého hmyzu

10:00 [Bc. Aneta Sýkorová](#) (M1, prof. Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D.)

Biomonitoring organohalogenovaných polutantů s využitím mateřského mléka jako bioindikátorové matrice.

10:20 [Bc. Lucie Šepsová](#) (M2, Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.)

Optimalizace metody pro stanovení kanabinoidů v konopných semínkách a oleji pomocí SFC-MS

10:40 [Bc. Anna Šírová](#) (M1, doc. Dr. Ing. Karel Cejpek)

α -Dikarbonylové sloučeniny v syrovátkovém proteinovém koncentrátu

11:00 [Bc. Marie Špetová](#) (M2, doc. Dr. Ing. Věra Schulzová)

Agaritin - přírodní toxin žampionů

vyhlášení výsledků

Hodnocení autenticity šafránu pomocí techniky plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií

Kamila Sirotková (M2)

Školitel: Ing. Michal Stupák, Ph.D.

Šafrán je jedním z nejdražších koření na světě a vzhledem k náročnému pěstování je produkován ve velmi omezené míře. Z těchto důvodů je šafrán často předmětem falšování. V této práci bylo analyzováno celkem 10 druhů koření (šafrán, arnika, granátové jablko, granátovník, kurkuma, měsíček, oreláník, paprika, červená řepa, světlice barvířská) a cílem bylo nalézt a identifikovat látky, které jsou specifické pro danou skupinu vzorků. Pro analýzu byla vybrána koření, kterými je šafrán nejčastěji falšován. Analyty byly ze vzorků izolovány pomocí techniky mikroextrakce tuhou fází (SPME) a následné separaci a detekci látek byla použita metoda plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) s využitím středně polární kolony HP-INNOWax. Získaná data v necílovém screeningu byla zpracována chemometrickými metodami PCA a PLS-DA a poté byly vyhledány a identifikovány potenciální markery charakteristické pro určitý vzorek koření sloužící k oddělení šafránu od ostatních druhů. Ve výsledném grafu komponentního skóre byl pozorován rozdíl mezi šafránem a ostatními analyzovanými vzorky, které od něj byly výrazně odděleny. Mezi nejvýznamnější marker identifikovaný v šafránu patřil 4-hydroxysafranal.

Studium fytokanabinoidů a jejich metabolitů v mozkové tkáni

Bc. Barbora Skalníková (M2)

Školitel: Ing. Marie Zlechovcová, Ph.D.

Fytokanabinoidy představují skupinu bioaktivních látek konopí, které jsou specificky rozpoznávané endokanabinoidním systémem v těle, a mohou tak ovlivňovat řadu biologických reakcí. Nejvýznamnějším zástupcem je nepsychotropní kanabidiol (CBD), který je pro svůj terapeutický potenciál často užíván ve formě tzv. CBD oleje. S rostoucí popularitou užívání konopí i samotných fytokanabinoidů pro léčebné účely se zvyšuje i snaha o porozumění farmakokinetiky a farmakodynamiky těchto látek v organismu, a schopnost je přesně kvantifikovat nejen v konopných produktech, ale i v biologických tkáních. V rámci této práce byla rozšířena a validována stávající metoda U-HPLC-MS/MS pro stanovení fytokanabinoidů a jejich metabolitů v biologických matricích, a to o nově dostupný analyt kanabigevarin (CBGV). V závislosti na koncentraci bylo dosaženo výtěžnosti CBGV 103 – 110 % a opakovatelnosti do 10 %. Dále byl vyšetřen soubor vzorků mozkové tkáně potkanů, získaných ze studie zaměřené na zvýšení biodostupnosti CBD v organismu. Zvířata byla za tímto účelem krmena CBD preparátem rozpuštěným v oleji a navázaným na 5 různých nosičích. Analýzou bylo zjištěno, že v případě všech testovaných nosičů byla koncentrace CBD i jeho metabolitů v mozkové tkáni významně vyšší než při podání CBD rozpuštěného v oleji.

Studium vlivu krmiva na metabolom jedlého hmyzu

Kateřina Sonntag (B3)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Vybrané skupiny jedlého hmyzu jsou od roku 2018 řazeny mezi tzv. potraviny nového typu. Nabízí se jako perspektivní řešení nedostatku potravin, který v budoucnu hrozí rostoucí lidské populaci. Vzhledem ke svým nutričním vlastnostem, zejména vysokému obsahu proteinů, mohou být vhodnou alternativou živočišných zdrojů bílkovin, jejichž produkce je zatížena vyšší uhlíkovou stopou a nepříznivým konverzním faktorem (tj. množstvím krmiva na produkci jednotky daného proteinu). Přes velký zájem o toto téma nebyl dosud dostatečně prozkoumán vliv krmiva s obsahem bioaktivních látek na celkovou kvalitu produkovaného jedlého hmyzu. Cílem této práce bylo zhodnocení vlivu krmiva s obsahem mrkve na metabolom cvrčka banánového (*Gryllus assimilis*). Metabolomická analýza polárních a nepolárních extraktů byla provedena s využitím ultra-vysokoúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostní spektrometrií (U-HPLC-HRMS/MS). Následně byla provedena vícerozměrná statistická analýza naměřených dat, s jejíž pomocí bylo možné od sebe odlišit jednotlivé testované skupiny, které měly k dispozici mrkev jako krmivo, od kontrolní skupiny a pozorovat vliv délky doby, po jakou byly skupiny mrkví krmeny. Dále byly vytipovány možné markery indikující přidavek mrkve do krmiva.

Biomonitoring organohalogenovaných polutantů s využitím mateřského mléka jako bioindikátorové matrice.

Bc. Aneta Sýkorová (M1)

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

Organochlorované polutanty jsou látky vykazující karcinogenní, neurotoxické a imunotoxické účinky na člověka a další živé organismy. Pro svoji schopnost persistence a vysoké lipofility se kumulují v tukové tkáni živočichů včetně člověka. Jejich přítomnost v mateřském mléce je indikátorem expozice matky a dítěte. Vzorky mateřského mléka, vyšetřované v této studii, byly získány v rámci spolupráce se Státním zdravotním ústavem Praha, který kontinuálně monitoruje tyto kontaminanty od roku 1994. Cílem studie bylo zhodnotit úroveň expozice populace ČR polychlorovaným bifenylym (PCB) a organochlorovaným pesticidy (OCP). Celkem bylo analyzováno 162 vzorků extrakcí ethylacetátem, extrakt byl následně přečištěn pomocí gelové permeační chromatografie a jako instrumentální koncovka byla použita plynová chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Tato práce představí výsledky biomonitoringu 8 kongenerů PCB a 13 OCP ze 3 měst ČR. Data budou statisticky vyhodnocena a výsledky porovnány s trendy v ČR a zahraničí. V analyzovaných vzorcích byl medián koncentrace sumy všech kongenerů PCB 102 ng/g tuku. Z OCP byl nejvíce zastoupen p,p'-DDE, p,p'-DDT, hexachlorbenzen a β -hexachlorcyklohexan. V rámci časového trendu se koncentrace v jednotlivých městech od roku 1994 snižují.

Optimalizace metody pro stanovení kanabinoidů v konopných semínkách a oleji pomocí SFC-MS

Bc. Lucie Šepsová (M2)

Školitel: Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.

Konopný olej je získáván lisováním konopných semínek, ta nejsou primárním zdrojem kanabinoidů. Do konopných semínek a olejů se kanabinoidy dostávají sekundární kontaminací z jiných částí rostlin (např. ze samičích květů). Pro stanovení kanabinoidů se obvykle používá kapalinová nebo plynová chromatografie nejčastěji ve spojení s hmotnostní spektrometrií. Problém nastává u matric, které obsahují vyšší procento tuku. Lipidy přecházející do měřeného extraktu mohou negativně ovlivňovat analýzu. Cílem této studentské práce je optimalizovat alternativní metodu pro stanovení kanabinoidů v matricích s vyšším obsahem tuku pomocí superkritické fluidní chromatografie s hmotnostní spektrometrií (SFC-MS). Pro přípravu extraktů z konopných semínek a olejů byl použit methanol s dichlormethanem (9:1). V rámci optimalizace byly vyzkoušeny různé typy mobilních fází a úpravy gradientu. Dobré výsledky byly zaznamenány s okyselenými mobilními fázemi a na kolonách s modifikovanou stacionární fází 2-ethylpyridinem nebo diolem. Zvolením správných podmínek byly z použitého standardu 17 kanabinoidů separovány jednotlivé kanabinoidy i problematické kanabinoidní kyseliny.

α -Dikarbonylové sloučeniny v syrovátkovém proteinovém koncentrátu

Bc. Anna Šírová (M1)

Školitel: doc. Dr. Ing. Karel Cejpek

α -Dikarbonylové sloučeniny (α -DC) vznikají především jako klíčové meziprodukty Maillardovy reakce při zahřívání nebo dlouhodobém skladování potravin a způsobují změny nutriční, senzorické a technologické jakosti. Zvýšený dietární příjem α -DC může vést v organismu k tzv. karbonylovému stresu a stát se tak příčinou nebo důsledkem řady chronických civilizačních nemocí a projevů stárnutí. Tato práce se zabývá stanovením α -DC v syrovátkových proteinových koncentrátech (WPC) používaných jako doplňková výživa pro sportovce a v modelových vzorcích pomocí metody HPLC-PDA (vysokoučinné kapalinové chromatografie ve spojení s detektorem fotodiodového pole) po derivatizaci *o*-fenylendiaminem na chinoxalinové deriváty. U dlouhodobě uskladněných vzorků WPC byl zjištěn obsah α -DC vyšší než 10 mg/kg. Podle údajů v literatuře obsahují jiné mléčné výrobky nejvýše jednotky mg/kg. V modelových vzorcích laktosy s kyselinou γ -aminomáselnou se obsah jednotlivých α -DC ve srovnání s WPC liší. Dále jsem se zabývala inhibičními účinky fenolových látek, které i v relativně nízkých a senzoricky přijatelných koncentracích (0,1 mmol/l) mohou koncentraci α -DC v nápojích připravených z WPC významně snížit (zejména fenolové kyseliny a naringenin).

Agaritin - přírodní toxin žampionů

Bc. Marie Špetová (M2)

Školitel: doc. Dr. Ing. Věra Schulzová

Houby jsou pro mnohé nepostradatelnou součástí stravy, a to díky jejich výživovým hodnotám a skvělé chuti. V některých druzích hub se však mohou vyskytovat i látky toxické. Agaritin, β -N-[γ -L-glutamyl]-4-(hydroxymethyl)fenylhydrazin, je toxin odvozený od hydrazinu vyskytující se v žampionech (*Agaricus spp.*), které patří mezi nejvíce konzumované houby na světě. Degradční produkty agaritinu byly spolu s dalšími deriváty hydrazinu v několika studiích popsány jako karcinogeny u myši. Agaritin by tak mohl představovat určité riziko pro člověka, neboť existuje podezření, že se jedná o potenciální karcinogen. Cílem této práce bylo validovat metodu pro stanovení agaritinu v žampionech a následně ji použít k analýze vzorků žampionů koupených na trhu. K analýze vzorků byla použita metoda ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (U-HPLC-MS). Prekurzory a degradační produkty agaritinu v žampionech byly studovány pomocí metody ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (U-HPLC-HRMS).

Sekce 5

MÍSTO: B 36

KOMISE

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

Ing. Lucie Drábová, Ph.D.

Ing. Vojtech Ilko, Ph.D.

doc. Dr. Ing. Věra Schulzová

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Sára Šedivá](#) (M2, prof. Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D.)

Sledování různých skupin zpomalovačů hoření v rámci biomonitoringu

09:20 [Bc. Martina Štěpánová](#) (M1, doc. Dr. Ing. Věra Schulzová)

Studium obsahu a stability karotenoidů v rostlinných a živočišných materiálech

09:40 [Bc. Kateřina Váchalová](#) (M2, Ing. Marie Zlechovcová, Ph.D.)

Transfer fytoKANABINOIDŮ z konopných 'čajů' do jejich vodných nálevů

09:40 [Bc. Martina Trepková](#) (M2, Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.)

Problematika stanovení reziduí propinebu metodou LC-MS/MS

10:20 [Bc. Tereza Vedrová](#) (M2, Ing. Zbyněk Džuman, Ph.D.)

Vliv tepelného zpracování potravin na obsah mykotoxinů

10:40 [Bc. Kristýna Velíková](#) (M1, Ing. Zbyněk Džuman, Ph.D.)

Optimalizace detekce širokého spektra mykotoxinů s využitím vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie

11:00 [Bc. Kristýna Vosálová](#) (M1, Ing. Marie Zlechovcová, Ph.D.)

Analýza fytoKANABINOIDŮ v koncentrovaných preparátech

11:20 [Kateřina Zimmerová](#) (M2, Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.)

Monitoring perfluoralkylovaných sloučenin v pitné vodě

vyhlášení výsledků

Sledování různých skupin zpomalovačů hoření v rámci biomonitoringu

Bc. Sára Šedivá (M2)

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

Halogenované retardéry hoření jsou skupina látek využívající se pro svou schopnost zpomalit vzplanutí polymerních materiálů využívaných v elektronice, textilu a výrobcích použitých v interiérech domů a dopravních prostředcích. S ohledem na jejich fyzikálně-chemické vlastnosti se mohou bioakumulovat v řadě organismů včetně člověka a ovlivňovat endokrinní systém a imunitu. Monitoring těchto látek v biologických matricích, v tomto případě v mateřském mléce a krevním séru, je vhodný způsob zhodnocení jejich expozice vybrané populace. K tomuto účelu bylo získáno v rámci studie Healthy Aging in Industrial Environment celkem 231 vzorků mateřského mléka a 351 vzorků krevního séra pro analýzu 36 HFR pomocí plynové a kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostně spektrometrickou detekcí. V mateřském mléce byly nad limitem kvantifikace (0,1-1,7 ng/g tuku) stanoveny pouze α -HBCD a sedm kongenerů PBDE, z nichž byly ve více než 5 % analyzovaných vzorků stanoveny pouze čtyři: #47, 99, 153 a 209. Průměrné hodnoty látek se nacházely mezi 0,35 a 4,90 ng/g tuku a jejich mediány byly 0,15 až 0,75 ng/g tuku. Tyto nálezy jsou v kontextu dalších evropských nálezů spíše nižší. Výsledky analýzy krevního séra a jejich korelace s mateřským mlékem budou představeny v rámci prezentace.

Studium obsahu a stability karotenoidů v rostlinných a živočišných materiálech

Bc. Martina Štěpánová (M1)

Školitel: doc. Dr. Ing. Věra Schulzová

Karotenoidy jsou přírodní lipofilní látky. Potravinám dodávají červenou, oranžovou a žlutou barvu. K nejvýznamnějším karotenoidům se řadí β -karoten, který je prekurzorem vitamínu A. Důležitou funkci má i lutein, který je součástí makulárního pigmentu. Dalším zástupcem je lykopen, který se vyskytuje hlavně v rajčatech. Konzumace karotenoidů má pozitivní vliv na zdraví člověka, díky jejich antioxidačním účinkům. Cílem této práce bylo identifikovat a stanovit hladiny karotenoidů v rostlinných a živočišných matricích, konkrétně v rajčatech, špenátu, vejcích a kuřecím tuku. Posuzován byl také vliv skladování a zpracování zeleniny na hladiny karotenoidů a byla sledována jejich případná degradace. V matricích, kde jsou karotenoidy vázány v esterifikovaných formách, bylo nejprve provedeno zmýdelnění. Samotná analýza proběhla pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) ve spojení s detektorem diodového pole (DAD).

Transfer fytoKANABINOIDŮ z konopných 'čajů' do jejich vodných nálevů

Bc. Kateřina Váchalová (M2)

Školitel: Ing. Marie Zlechovcová, Ph.D.

FytoKANABINOIDY jsou bioaktivní metabolity konopí s řadou prokázaných pozitivních účinků. Patří mezi ně ale i psychotropní Δ -9-tetrahydroKANABINOL (Δ^9 -THC), jehož přítomnost v potravinách je nežádoucí. Konopné 'čaje', tedy sušené směsi konopí určené ke konzumaci v podobě vodného nálevu či odvaru nemají jasně definovanou legislativu a při hodnocení obsahu fytoKANABINOIDŮ se často vychází z obsahu těchto látek v suché herbě. FytoKANABINOIDY však do vodného prostředí nepřecházejí kompletně, protože jsou relativně málo polární. Touto problematikou se zabývá málo vědeckých studií, a není dostatečně kvantitativně popsána. Cílem této práce bylo zjistit vliv podmínek přípravy na transfer fytoKANABINOIDŮ ze sušené herby do vodného nálevu či odvaru. Modifikovány a testovány byly následující parametry: (i) teplota vody a způsob přípravy, (ii) poměr použité herby a objemu vody, (iii) typ filtrace. Pro stanovení 17 fytoKANABINOIDŮ byla využita ultraúčinná kapalinová chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-HRMS/MS). Bylo zjištěno, že transfer fytoKANABINOIDNÍCH kyselin do vodného prostředí probíhal ve větší míře (4 – 54 %) než u neutrálních fytoKANABINOIDŮ (0,05 – 47 %). Největší vliv na přestup přitom měla teplota vody a množství použité herby.

Problematika stanovení reziduí propinebu metodou LC-MS/MS

Bc. Martina Trepková (M2)

Školitel: Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.

Propineb, dnes již zakázaná látka patřící do skupiny dithiokarbamátů, se používal jako účinná látka ve fungicidních přípravcích. Nejčastěji se aplikoval na ovocné stromy a vinnou révu, ale v EU je již od roku 2018 zakázaný. Vlivem slunečního záření podléhá rozkladu na metabolity, jako je PDA (propylendiamin) a PTU (propylenthiourea). Samotný propineb se nejčastěji stanovuje po konverzi na CS₂ pomocí plynové chromatografie s navázáním na plamenově fotometrický detektor (GC-FPD). Maximální reziduální limit (MRL) dle Nařízení komise (ES) č. 396/2005 je stanoven pro propineb, který je vyjádřen jako PDA. Práce je proto zaměřena na vývoj, optimalizaci a validaci metody pro analýzu PDA. Pro extrakci analytu byla použita metodika QuPPE ve spojení s vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií s tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-MS/MS). Metoda byla dle kritérií dokumentu SANTE 12682/2019 úspěšně validována pro matrici jablečná dřeň. Druhá část práce byla zaměřena na konverzi propinebu na jeho metabolity. Aktuálně probíhá série experimentů, kde je testováno použití kyseliny chlorovodíkové k chemické konverzi, různě dlouhá teplotní konverze při 80 °C a fotolýza. Metabolity jsou následně extrahovány metodou QuPPE, ale je testována i metoda QuEChERS.

Vliv tepelného zpracování potravin na obsah mykotoxinů

Bc. Tereza Vedrová (M2)

Školitel: Ing. Zbyněk Džuman, Ph.D.

Sekundární metabolity vláknitých mikroskopických hub zvané mykotoxiny představují potenciální závažné riziko pro zdraví konzumenta. Jsou považovány za poměrně tepelně stabilní sloučeniny a jakýmkoliv technologickým zpracováním potravin zahrnující vysokou teplotu nelze dosáhnout jejich kompletního odstranění, ačkoliv částečná eliminace je literárně potvrzená. V předchozí práci jsem se zabývala osudem mykotoxinů v průběhu kynutí a pečení (bílé pečivo), kdy jsem zaznamenala redukci vybraných mykotoxinů až o 20 %. V rámci této práce, nejen pro porovnání, jsem sledovala míru degradace těchto toxinů při různých teplotách (70, 100, 130, 160, 190, 220 °C) a různém čase (1, 5, 10, 15, 30, 60 min) bez matrice. K analýze byla využita ultra-účinná kapalinová chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostně-spektrometrickou detekcí (U-HPLC–HRMS/MS). Všeobecně došlo k významné redukci u všech analytů (n = 51). Až 80 % mykotoxinů bylo zredukováno na méně jak 5 % původní koncentrace při 220 °C po 60 minutách. Mezi nejstabilnějších mykotoxiny lze zařadit ochratoxin A, tentoxin a skupinu enniatinů, u kterých byla za těchto podmínek zjištěna 80% redukce.

Optimalizace detekce širokého spektra mykotoxinů s využitím vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie

Bc. Kristýna Velíková (M1)

Školitel: Ing. Zbyněk Džuman, Ph.D.

Mykotoxiny, toxické sekundární metabolity mikroskopických vláknitých hub, patří mezi časté kontaminanty potravin, pro které je z hlediska bezpečnosti potravin žádoucí dosahovat nízkých limitů kvantifikace. V rámci této práce bylo cílem optimalizovat instrumentální metodu pro stanovení širokého spektra 57 mykotoxinů s využitím ultra-účinné kapalinové chromatografie a vysokorozlišovací tandemové hmotnostní spektrometrie (U-HPLC–HRMS/MS), a to konkrétně čtyři parametry ionizace (průtok sušícího a zmlžovacího plynu, vypařovací teplota, napětí na elektrospreji) a čtyři parametry detekce (teplota kapiláry, hodnota S-lens, automatická regulace citlivosti, maximální doba nástřiku) v obou polaritních módech (ESI+ a ESI–). Při výběru optimálního nastavení každého parametru bylo přihlédnuto mj. i k obecné četnosti výskytu mykotoxinů, a také k tomu že jsou některé legislativně regulované. Pro verifikaci optimalizace byly následně proměřeny matriční kalibrační standardy (cereálie/pšenice), u kterých bylo zjištěno, že pro 28 % analytů došlo ke zlepšení detektability, pro 9 % byla mírně zhoršena a u 63 % ke změně nedošlo, často již z důvodu bezproblémové detekce nejnižšího kalibračního bodu.

Analýza fytokanabinoidů v koncentrovaných preparátech

Bc. Kristýna Vosálová (M1)

Školitel: Ing. Marie Zlechovcová, Ph.D.

Fytokanabinoidy jsou sekundární metabolity konopí významné pro svojí biologickou aktivitu. Mezi nejvíce prozkoumané patří psychotropní Δ^9 - tetrahydrokanabinol (Δ^9 -THC) a farmakologicky zajímavý kanabidiol (CBD). V současnosti stále více roste zájem o výrobky s vysokým obsahem fytokanabinoidů, dokonce lze zakoupit i čisté krystalické látky (> 90 hm. %). Při analytické kontrole takovýchto preparátů je na jedné straně kladen důraz na co nejpřesnější stanovení „čistoty“ majoritních složek, ale také na stanovení stopových obsahů zejména psychotropního Δ^9 -THC. Cílem práce bylo otestovat pro stanovení fytokanabinoidů ve vzorcích s obsahem CBD > 90 hm. % možnost náhrady aktuálně využívané techniky UHPLC-HRMS/MS konvenčním detektorem DAD. Technikou UHPLC-HRMS/MS je sice dosahováno vysoké citlivosti detekce (LOQ 3 mg/kg), ale hodnota opakovatelnosti v případě CBD je pro účely stanovení čistoty nepřijatelně vysoká (RSD až 9,4 %). Při analýze stejného vzorku pomocí UHPLC-DAD se hodnotu opakovatelnosti pro CBD podařilo snížit až 4x, detekční limity jsou zde ovšem výrazně vyšší (LOQ 1250 mg/kg). Pro komplexní analýzu koncentrovaných preparátů fytokanabinoidů, tedy jak přesné stanovení čistoty majoritní složky, tak citlivé detekce stop Δ^9 -THC, je tedy vhodné kombinovat obě uvedené techniky.

Monitoring perfluoralkylovaných sloučenin v pitné vodě

Kateřina Zimmerová (M2)

Školitel: Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.

Poly- a perfluoroalkylované látky (PFAS) je souhrnný název pro skupinu syntetických fluorovaných látek s jedinečnými vlastnostmi, jichž je využíváno v průmyslu i komerčních výrobcích. PFAS vstupují do potravního řetězce, kde mohou představovat zdravotní riziko pro člověka. Proto byl v roce 2020 Evropským úřadem pro bezpečnost potravin upraven tolerovatelný týdenní příjem (TWI) na 4,4 ng/kg těl. hm./týden pro sumu čtyř PFAS. Cílem práce bylo zhodnotit výskyt PFAS v kohoutkové pitné vodě odebírané v pražském vodovodním řádu na jaře a na podzim 2021. Bylo vyšetřeno 22 vzorků ze dvou různých zdrojů vody (Želivka, Káraný). Celkem 29 analytů PFAS bylo z vody izolováno extrakcí na tuhou fázi s následným stanovením vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Zdroj vody Káraný byl posouzen jako kontaminovanější. Průměrné hodnoty detekovaných PFAS v podzimním odběru (0,08-2,16 ng/l) se téměř u všech látek snížily, v porovnání s jarním odběrem (0,08-3,93 ng/l). Odhadnutý týdenní příjem PFAS konzumací vody byl porovnán s TWI. K naplnění TWI u dospělého člověka pro $\Sigma 4$ PFAS došlo z 2-56 %. Ze zjištěných dat bylo zhodnoceno, že nedochází k překročení TWI, nicméně voda není jediný zdroj PFAS, který přispívá k celkové expozici PFAS.

Ústav konzervace potravin (324)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

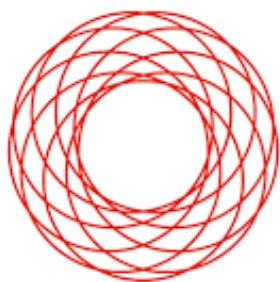
Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

SEZNAM SEKČÍ

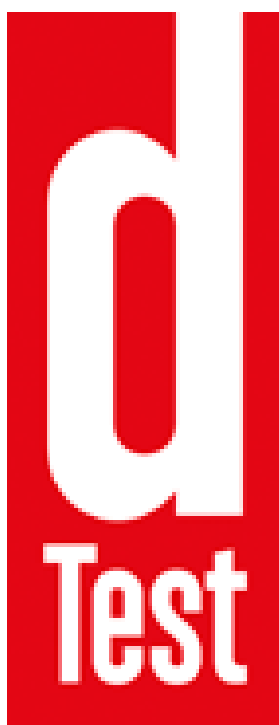
1. [Ústav konzervace potravin I](#)
2. [Ústav konzervace potravin II](#)

SPONZOŘI





DEVRO



Ústav konzervace potravin I

MÍSTO: B24

KOMISE

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

Ing. Iveta Horsáková, Ph.D.

Ing. Jan Pivoňka, Ph.D.

PROGRAM

08:30 **zahájení**

08:30 [Bc. Jakub Gála](#) (M2, Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.)

Obalové materiály s antimikrobními laky

08:45 [Bc. Martina Hraničková](#) (M2, doc. Ing. Helena Čížková, Ph.D.)

Vliv zpracování černého rybízu na charakteristické složky ovocné šťávy

09:00 [Bc. Diana Křížová](#) (M2, Ing. Tereza Škorpilová, Ph.D.)

Hodnocení reformulovaných potravin pomocí pokročilých analytických metod

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

Bariérové vlastnosti obalových materiálů z pohledu aromatických látek

09:30 [Bc. Zuzana Pavelčíková](#) (M2, doc. Ing. Helena Čížková, Ph.D.)

Charakteristika českého medu

09:45 [Simona Sedláčková](#) (M2, Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.)

Stanovení nezáměrně přidaných látek (NIAS) v obalových materiálech s recyklovanou surovinou

10:00 [Bc. Martina Weberová](#) (M2, Ing. Vojtěch Kružík, Ph.D.)

Fyzikálně-chemická charakterizace adulterantů včelího vosku

10:15 [Bc. Barbora Černá](#) (M2, doc. Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D.)

Hodnocení kvality masných výrobků

vyhlášení výsledků

Obalové materiály s antimikrobními laky

Bc. Jakub Gála (M2)

Školitel: Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

Antimikrobní aktivní obaly jsou takové, které přímo nebo nepřímo zabraňují růstu nežádoucí mikroflóry aktivní úpravou podmínek v obalu během skladování. Tato práce je zaměřena na laky, ze kterých se uvolňuje aktivní látka, případně jejich směs. Byly použity aktivní látky přírodního původu: thymol, eugenol, eucalyptol a také chitosan. Chitosan je polysacharid získaný částečnou deacetylací jednotek N-acetyl-D-glukosaminu v chitinu. Je sám nositelem antimikrobní funkce a lze ho použít jako nosič dalších aktivních látek buď ve formě nanočástic nebo filmu, případně může být sám o sobě použit jako obalový materiál. Byly testovány a vyvíjeny metody pro enkapsulaci aktivních látek do nanočástic polymléčné kyseliny (PLA) a chitosanu a jejich metody aplikace na obalový materiál pomocí laků.

Vliv zpracování černého rybízu na charakteristické složky ovocné šťávy

Bc. Martina Hraničková (M2)

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

Černý rybíz (*Ribes nigrum*) a červený rybíz (*Ribes rubrum*) jsou zpracovány do podob džemů, šťáv, sušených a mražených bobulí, pyré, koncentrátů a extraktů. V dnešní době jsou výrobky z rybízu oblíbené nejen pro svojí charakteristickou chuť, ale i jako významný zdroj, antioxidantů (anthokyany, další polyfenoly, kyselina askorbová). Práce se zabývá vlivem zpracování černého rybízu (zároveň i s červeným rybízem) na charakteristické složky ovocné šťávy. Experimentálně byl nejprve ověřen vliv prvních kroků zpracování (drcení, enzymatická macerace a lisování) na výtěžnost a vybrané kvalitativní markery (refraktometrická sušina, titrační kyselost, formolové číslo, glukóza, fruktóza, organické kyseliny, anthokyany a minerální látky). Naměřené výsledky byly porovnány s databází AIJN *Code of Practice* (Association of the Industry of Juices and Nectars from Fruits and Vegetables of the European Union) a literárními zdroji. Ze známých faktorů ovlivňujících složení finálních výrobků se jako významné jeví vliv odrůdy a stadia zralosti plodů, provedení předběžných operací (např. čištění a odstopkování) a podmínky aplikace pektolytických enzymů.

Hodnocení reformulovaných potravin pomocí pokročilých analytických metod

Bc. Diana Křížová (M2)

Školitel: Ing. Tereza Škorpilová, Ph.D.

Reformulované potraviny jsou potraviny, u kterých došlo ke snížení některých živin a energetické hodnoty, nebo naopak k vylepšení nutričního složení přidavkem vitaminů a jiných složek. Tato práce se zabývá hodnocením vlivu snížení obsahu soli u čerstvých sýrů na chemické složení, protože nadbytek soli ve stravě má nepříznivé zdravotní dopady (hypertenze, mozková mrtvice, infarkt a další). Sůl však plní v sýrech mnoho funkcí, a je proto důležité hodnotit vliv snižování soli na tyto funkce. Pro hodnocení chemického složení sýrů byla použita technika DART Q-TOF/MS. Analyzován byl soubor modelových sýrů, které byly naloženy do solné lázně na různě dlouhou dobu. Získaná spektra byla statisticky zpracována pomocí analýzy hlavních komponent (PCA).

Bariérové vlastnosti obalových materiálů z pohledu aromatických látek

Bc. Kateřina Novotná (M2)

Školitel: Ing. Lenka Votavová, Ph.D.

Polymerní materiály jsou široce využívány při balení potravin. Přes tyto materiály mohou prostupovat malé molekuly, což má za následek změny ve kvalitě baleného produktu. Jedním z klíčových kritérií kvality pro mnohé potraviny je aroma. Aromatické látky během skladování prostupují přes obalový materiál a tento přenos může mít za následek ztrátu vůně a chuti, proto jsou bariérové vlastnosti důležitým parametrem při výběru druhu polymeru. Transport aromatických látek přes polymerní materiály je ovlivňován mnoha faktory, mezi které patří chemické složení, morfologie, hydrofilní a hydrofobní vlastnosti polymeru i permeantu, a podmínky skladování (teplota a relativní vlhkost). Některé studie ukazují, že dobré bariérové vlastnosti vůči propustnosti aroma vykazuje kyselina polymléčná. Cílem této práce je srovnání bariérových vlastností běžně používaných polymerů pro balení potravin s biodegradovatelnými materiály, mezi které se kyselina polymléčná řadí. Doposud byly provedeny prvotní zkušební testy prostupu vybraných aromatických látek. Nejprve proběhlo testování vhodné matrice, testování opakovatelnosti a výtěžnosti látek. Poté byla testována migrace aromatických látek vanilinu, eugenolu a eukalyptolu přes fólii vyrobenou z polyethylenu, a to jak při laboratorní, tak zvýšené teplotě.

Charakteristika českého medu

Bc. Zuzana Pavelčíková (M2)

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

V rámci projektu NAZV bylo premeraných 60 vzoriek medu priamo od včelárov z Českej republiky. Analyzované boli fyzikálno-chemické parametre, medzi ktoré patril obsah vody, vodivosť, aktivita diastázy, obsah HMF a kyslosť. Namerané výsledky boli porovnané s vyhláškou č. 76/2003 Sb., ktorá definuje požiadavky na med. Toto porovnanie preukázalo 92% zhodu. Obsah vody prekročil limit pri 4 vzorkách a priemerne sa pohyboval okolo 18 %. Z premeraných vzoriek bola vodivosť vyššia ako 80 mS/m u 7 vzoriek, čo znamená, že 12 % medov bolo medovicových a 88 % medov kvetových. Obsah HMF bol prekročený len u jednej vzorky, pri kyslosti a aktivite diastázy nedošlo k prekročeniu stanovených limitov. Vysoké hodnoty aktivity diastázy a zároveň nízke obsahy HMF značili vysokú kvalitu medov. Na základe peľovej analýzy z VETUNI Brno bolo vybraných 15 medov (2 lipové, 3 agátové, 5 repkových, 5 zmiešaných), ktoré boli podrobené cieľenej analýze s využitím GC-MS. Sledovaných bolo 12 vybraných prchavých látok (3-metylbutannitril, benzaldehyd, benzenacetaldehyd, *cis*-linalooloxid, p-cymene, β -linalool, benzenethanol/roseoxid, kyselina nonánová, carvacrol, 2-metyl-3-heptanon, 6-undekanon, benzofenon). Do budúca je v pláne podrobiť vzorky necieľenej analýze za pomoci pokročilých štatistických metód (PCA).

Stanovení nezáměrně přidaných látek (NIAS) v obalových materiálech s recyklovanou surovinou

Simona Sedláčková (M2)

Školitel: Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

V rámci Evropské strategie pro plasty v oběhovém hospodářství je jako jeden z cílů uveden, že všechny potravinářské i nepotravinářské obaly přítomné na trhu mají být do roku 2030 buď znovupoužitelné anebo snadno recyklovatelné a použité k další výrobě obalového materiálu. Z toho důvodu roste objem výroby obalů s podílem recyklované suroviny. V současnosti se v potravinářství z recyklátu vyrábějí obaly z různých materiálů, jakými jsou například papír, PET (polyethylentereftalát) či polyolefiny. Výrobci obalového materiálu deklarují obsah použitého recyklátu, nicméně instrumentální metody, které by pomohly rozlišit čisté materiály od těch s obsahem recyklátu, nejsou zatím zcela vyvinuty. Proto jsou v různých vzorcích s odlišným zastoupením recyklátu hledány látky, které by mohly sloužit jako indikátory pro určení obsahu recyklátu. Zároveň je důležité z hlediska zdraví spotřebitelů identifikovat tzv. nezáměrně přidané látky (NIAS). Nezáměrně přidané látky mohou pocházet z různých zdrojů, příkladem NIAS jsou kontaminanty z prostředí, vedlejší produkty polymeračních reakcí či degradační produkty přidávaných aditiv používaných na úpravu vlastností. Tyto látky jsou často nízkomolekulárního charakteru, a tak mohou migrovat z obalů do potravin a tím negativně ovlivňovat zdraví konzumentů.

Fyzikálně-chemická charakterizace adulterantů včelího vosku

Bc. Martina Weberová (M2)

Školitel: Ing. Vojtěch Kružík, Ph.D.

Tato práce se zabývá studiem fyzikálních vlastností a chemického složení adulterantů, které jsou nejčastěji používány k falšování včelího vosku. Včelí vosk je cenná komodita, která je často falšována. K adulteraci se používají parafin, stearin nebo ceresin, ale také různé rostlinné či živočišné tuky a vosky nebo směsi mastných kyselin. Přítomnost adulterantů mění fyzikálně-chemické vlastnosti včelího vosku, což negativně ovlivňuje stabilitu včelího díla i vývoj včelího plodu. Cílem práce je stanovit chemické složení adulterantů a jejich fyzikálních vlastností. Analyzované fyzikální vlastnosti vzorků byly bod tání, číslo kyselosti a číslo zmýdelnění. Chemické složení vzorků bylo studováno z hlediska obsahu mastných kyselin a obsahu uhlovodíků. Obsah mastných kyselin byl stanoven pomocí GC-FID a obsah uhlovodíků pomocí GC-MS. Změřené byly vzorky parafinu s různou teplotou tání, ceresin, karnaubský vosk, palmový vosk a stearin.

Hodnocení kvality masných výrobků

Bc. Barbora Černá (M2)

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

Konzervy a polokonzervy jsou jakožto masné výrobky ošetřovány konvenčními konzervačními metodami, kterými jsou sterilace a pasterace. Parametry daného tepelného ošetření jsou zásadní pro výslednou bezpečnost, údržnost a kvalitu výrobku. Nevhodně vedený tepelný proces může být příčinou nedostatečného nebo naopak nadměrného tepelného opracování výrobku. Špatně nastavené parametry procesu, případně samotné vlastnosti produktu a podmínky plnění do spotřebitelských obalů, mohou být důvodem nepříznivého vývoje tlaku uvnitř produktu. Velké tlakové rozdíly uvnitř a vně produktu mohou poškozovat celistvost obalu výrobku a způsobovat technologické defekty, tzv. bombáže. Zároveň však tlakové poměry nepatří mezi často sledované parametry, přestože jsou významné pro hodnocení účinnosti tepelného ošetření. Cílem práce je optimalizovat tepelný záhřev masových konzerv a polokonzerv za využití znalosti průběhu teploty a tlaku během tepelného záhřevu. V rámci práce jsou hodnoceny možné příčiny vad masových konzerv a polokonzerv.

Ústav konzervace potravin II

MÍSTO: B23

KOMISE

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

doc. Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D.

Ing. Tereza Škorpilová, Ph.D.

PROGRAM

08:30 **zahájení**

08:30 [Bc. Jan Kostlán](#) (M2, Ing. Jan Pivoňka, Ph.D.)

Řízení a hodnocení kvality masných výrobků

08:45 [Bc. Jaroslav Krupinský](#) (M2, Ing. Jan Pivoňka, Ph.D.)

Metodika spotřebitelských testů potravin

09:00 [Huong Thu Leová](#) (M2, Ing. Eva Šviráková, Ph.D.)

*Tolerance potravinářsky nežádoucích bakterií *E. coli* a *Klebsiella pneumoniae* k chloridu sodnému s využitím laboratorního bioreaktoru RTS-8*

09:15 [Bc. David Petrašovský](#) (M2, Ing. Jan Pivoňka, Ph.D.)

Vnímání potravin s upravenou výživovou hodnotou

09:30 [Bc. Jakub Reitmeier](#) (M2, Ing. Iveta Horsáková, Ph.D.)

Využití pulzního elektrického pole při konzervaci potravin

09:45 [Bc. Karolina Rolková](#) (M2, Ing. Lenka Votavová, Ph.D.)

Možnosti aplikace biodegradovatelných materiálů v potravinářství

10:00 [Bc. Veronika Stryczková](#) (M2, Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.)

Charakterizace a testování absorbérů kyslíku

vyhlášení výsledků

Řízení a hodnocení kvality masných výrobků

Bc. Jan Kostlán (M2)

Školitel: Ing. Jan Pivoňka, Ph.D.

V dnešní době je kladen čím dál větší důraz na kvalitu potravin, a zejména pak masných produktů ze strany spotřebitele. K dosažení co nejlepší a nejkvalitnější produkce těchto výrobků je nutné dodržovat legislativní dokumenty, které se mohou v různých zemích lišit. Cílem této práce je zhodnotit a kriticky srovnat definice a kvalitativní parametry masa a masných výrobků dle legislativních dokumentů v České republice a okolních zemích (Německo, Slovensko). Kvalitativními parametry se rozumí obsah čisté svalové bílkoviny, tuků, vody/sušiny nebo aktivita vody. Zároveň se v rámci kvality hodnotí obsah aditiv a dalších žádoucích nebo nežádoucích látek. Tato práce se zabývá především aktivitou vody, jejíž stanovení není dle národní doložky pro ISO harmonizovaná.

Metodika spotřebitelských testů potravin

Bc. Jaroslav Krupinský (M2)

Školitel: Ing. Jan Pivoňka, Ph.D.

Nedílnou součástí informování spotřebitele o kvalitě potravin jsou spotřebitelské testy, které mají objektivně porovnat a zhodnotit jednotlivé značky dané komodity potravin a pomoci spotřebiteli při nákupu. Metodika spotřebitelských testů potravin v rámci České republiky není doposud obecně definována. Rozhodli jsme se tedy tímto tématem zabývat a vypracovali jsme odbornou rešerši řešící metodiku spotřebitelských testů potravin. Zaměřili jsme se především na problematiku provádění spotřebitelského testování potravin, a to zejména na charakteristiku obecných parametrů, včetně výčtu kvalitativních znaků potravin.

*Tolerance potravinářsky nežádoucích bakterií *E. coli* a *Klebsiella pneumoniae* k chloridu sodnému s využitím laboratorního bioreaktoru RTS-8*

Huong Thu Leová (M2)

Školitel: Ing. Eva Šviráková, Ph.D.

Základním předpokladem moderní průmyslové výroby potravin je výroba zdravotně mikrobiologicky bezpečných a jakostních výrobků. Tato práce se zabývá potravinářsky nežádoucími bakteriemi z čeledi Enterobacteriaceae, konkrétně druhy *Escherichia coli* a *Klebsiella pneumoniae*, vykazujícími mimo jiné halotolerantní vlastnosti. Cílem této práce je zjistit toleranci potravinářských průmyslových izolátů *E. coli* a *K. pneumoniae* k různým koncentracím chloridu sodného (0–10,0 hm. %) s využitím laboratorního bioreaktoru RTS-8 (BioSan, LVA), a také jejich růstovou aktivitu s využitím plotnové metody. Na základě uskutečněných experimentů bylo konstatováno, že testované kmeny *E. coli* a *K. pneumoniae* vykazovaly dobrou růstovou aktivitu během aerobních kultivací v Trypton-sójovém bujónu (bujón TSB)/agaru (agar TSA), při teplotě 37 °C, po dobu 18 h/72 h s tím, že na agaru TSA dosahovaly počtů v rozmezí řádů 10^8 – 10^9 KTJ·ml⁻¹. Kmeny tolerovaly přítomnost NaCl v bujónu TSB až do koncentrace 9,0 hm. % s tím, že koncentraci 10,0 hm. % už netoleroval žádný kmen. Výsledky této práce mohou přispět k jištění zdravotní mikrobiologické bezpečnosti a jakosti potravinářských výrobků, zejména sladkých sýrů solených na solovnách, při eliminaci nežádoucích halotolerantních bakterií *E. coli* a *K. pneumoniae*.

Vnímání potravin s upravenou výživovou hodnotou

Bc. David Petrašovský (M2)

Školitel: Ing. Jan Pivoňka, Ph.D.

Tato práce zkoumá povědomí a schopnost spotřebitelů porozumět výživově upraveným potravinám. Shromažďuje a třídí dosavadní informace v problematice reformulací a alternativních zdrojů bílkovin z nutričního hlediska. Stanovuje důvody pro nutnost správné komunikace úpravy složení potraviny v kontextu nadnárodních strategií jako je „Farm to fork“. Dále se zabývá dosavadní možností komunikace takto upravených potravin ze strany výrobce ke konzumentovi a hodnotí ji. U konkrétních nutričně upravených potravin posléze navrhuje nové způsoby označení dle vyvíjených metodik, jako je značení na přední straně obalu v rámci stávajících právních předpisů. Na závěr vytyčuje metodiku pro budoucí ověření informací mezi spotřebiteli.

Využití pulzního elektrického pole při konzervaci potravin

Bc. Jakub Reitmeier (M2)

Školitel: Ing. Iveta Horsáková, Ph.D.

Využití pulzně elektrického pole při konzervaci potravin je zkoumáno již od 60. let minulého století. Jedná se o netermální metodu úchovy potravin, která má za cíl zabránit mikrobiální zkáze potraviny bez významného dopadu na nutričně cenné a senzory aktivní látky. Další výhodou této technologie je značná úspora provozních nákladů zejména při porovnání s tepelným záhřevem. Cílem této práce je shrnout poznatky o této problematice uvedené v odborné literatuře a získat nová experimentální data. Data byla získána díky spoluprací s firmou, vyrábějící přístroje generující pulzní pole. Modelovým mikroorganismem při experimentu byla kvasinka *Saccharomyces cerevisiae*. Měřili jsme pokles množství kultivovatelných buněk při různé kombinaci parametrů. Při vhodně nastavené frekvenci a intenzitě elektrického pole se podařilo snížit množství kvasinek až o pět řádů. Zkoumali jsme také rozdíl efektivity působení monopolárních a bipolárních impulzů. Poslední částí experimentu je ošetření kultury *Lactobacillus plantarum* pomocí méně intenzivního pulzně elektrického pole, čímž by mělo dojít ke stimulaci růstu a zkrácení doby fermentace.

Možnosti aplikace biodegradovatelných materiálů v potravinářství

Bc. Karolina Rolková (M2)

Školitel: Ing. Lenka Votavová, Ph.D.

Biodegradovatelné obaly jsou vyrobeny z materiálů jako jsou škroby, celulóza a speciální polymery. Ty jsou rozložitelné v přírodě díky mikroorganismům a dalším exogenním vlivům. Pomocí chemické regenerace celulózy je možné získat celofán jakožto biodegradovatelný materiál, který má vysokou propustnost pro vodní páru, což omezuje jeho širší použití při balení potravin. Cílem práce bylo pomocí povrchové úpravy vylepšit primárně bariérové vlastnosti případně jiné funkční vlastnosti celofánové folie. Na povrch byly aplikovány roztoky nepochlívajících látek v organických rozpouštědlech. Byla provedena modifikace funkčních skupin sililací a vazbou isokyanátů. Změřena byla propustnost pro vodní páru, propustnost pro kyslík, barva, transmitance a pevnost v tahu. U upravené folie s nejlepšími výsledky byla potvrzena modifikace povrchu pomocí FTIR.

Charakterizace a testování absorbérů kyslíku

Bc. Veronika Stryczková (M2)

Školitel: Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

Aktivní balení je stále se rozvíjející oblast obalového a potravinářského průmyslu. Nejprostudovanějšími a nejvíce používanými prvky této oblasti jsou právě absorbéry kyslíku. Cílem práce bylo charakterizovat a otestovat komerčně dostupné absorbéry kyslíku, především za účelem pochopení jejich fungování a ověření jejich kapacity. Schopnost sorpce kyslíku byla sledována pro různé polymerní materiály (s odlišnou propustností pro kyslík) za různých podmínek. V připravených vzorcích bylo měřeno složení atmosféry v definovaných časových intervalech. Z naměřených hodnot byla vytvořena výpočetní předloha potenciálně sloužící k výběru vhodného absorbéru v závislosti na podmínkách balení a skladování produktu.

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](#)

SPONZOŘI



L'ORÉAL



vesmír

Ústav chemie přírodních látek -I

MÍSTO: RESPIRIUM

KOMISE

doc. Dr. Ing. Ivan Raich (předseda)

Ing. Petr Štěpánek, Ph.D.

Petra Cihlářová , PharmDr. Ph.D.

PROGRAM

zahájení

[Bc. Lenka Babjaková](#) (M2, Ing. Michal Lebl, DrSc.)

Možnosti přípravy dendrimerních peptidu na pevné fázi a studium vzniku vedlejších produktu

[Bc. František Fiala](#) (M2, Ing. Michal Jurášek, Ph.D.)

Příprava deuterovaných analytických standartů vybraných steroidů.

[Bc. Nikola Kopalová](#) (M2, Ing. Kamil Parkan, Ph.D.)

Stereoselektivní syntéza S-glykosidů pomocí fotochemie

[Bc. Dana Králová](#) (M2, Ing. Kamil Parkan, Ph.D.)

Stereo- a regioselektivita fotochemické radikálové adice při syntéze S-glykosidů

[Bc. Jan Mazel](#) (M2, Ing. Michal Jurášek, Ph.D.)

Syntéza a charakterizace derivátů kyseliny betulinové jako maturačních inhibitorů

[Ondřej Orság](#) (B3, Ing. Kamil Parkan, Ph.D.)

Stereoselektivní syntéza substituovaných α -D-glukopyranosyl tetrazolů

[Bc. Daniel Slanina](#) (M2, prof. Ing. Zdeněk Wimmer, DrSc.)

Amidy vybraných triterpenoidů

[Bc. Karel Tůma](#) (M1, Ing. Kamil Parkan, Ph.D.)

Stereoselektivní syntéza C-glykosidů z 2,3:4,6-di-O-isopropyliden-D-glukalu

[Bc. Natálie Šiplerová](#) (M2, prof. Ing. Zdeněk Wimmer, DrSc.)

Pyrazinový motiv v derivatizaci vybraných triterpenoidů, jejich samoskladba a biologická aktivita

vyhlášení výsledků

Možnosti přípravy dendrimerních peptidu na pevné fázi a studium vzniku vedlejších produktu

Bc. Lenka Babjaková (M2)

Školitel: Ing. Michal Lebl, DrSc.

Dendrimérne peptidy sú charakterizované základnou peptidovou väzbou a dvoma základnými vlastnosťami. Charakteristickou vlastnosťou dendrimérnych peptidov je centrálné jadro s povrchovými funkciami a vetviace jednotky, ktoré sú na centrálné jadro pripojené. Dendriméry radíme medzi monodisperzné makromolekuly vznikajúce polymerizáciou, ktorá produkuje dendriméry rozličných veľkostí. Dendrimérne peptidy sú charakterizovateľné svojou okrúhlou štruktúrou. Nachádzajú svoje využitie v rôznych chemických, biochemických a biologických odvetviach. Svoje uplatnenie nájdú v biologických vedách ako inhibítory, mimetiká a imunogény. V dnešnej dobe nachádzajú veľké využitie na výrobu vakcín na rôzne vírusové ochorenia. Vo svojej práci sa venujem štúdiu antimikrobiálnych peptidov, ktoré budú pripojené na dendrimér a tým sa overí ich účinok. Mechanizmus účinku spočíva v narušení bunkovej steny a následkom je strata vnútorného obsahu bunky a smrť. Hlavnou témou dnešných dní je vírusové ochorenie COVID-19, tak veľkú časť mojej práce tvorí výskum vhodnej vakcíny na toto ochorenie. Spočítava to vo vybratí vhodnej sekvencie na vakcínu, ktorá bude na bázi dendriméru a následnej syntézy. Ako posledný krok bude v spolupráci s ČAV výskum tvorby protilátok.

Příprava deuterovaných analytických standartů vybraných steroidů.

Bc. František Fiala (M2)

Školitel: Ing. Michal Jurášek, Ph.D.

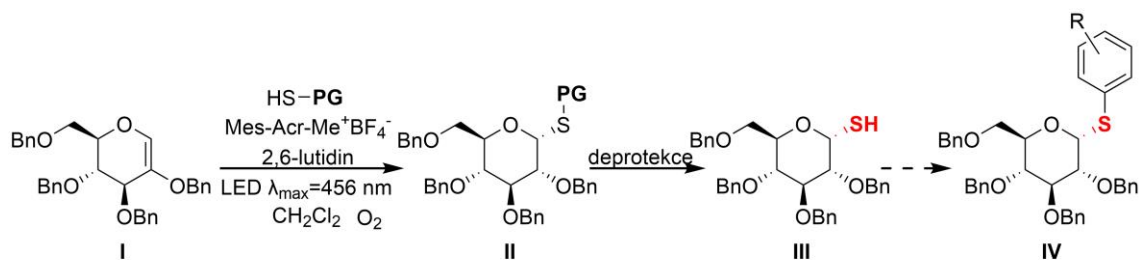
Cílem této práce je příprava deuterovaných analogů vybraných steroidů, designovaných jako vnitřní standardy pro vývoj nových analytických metod založených na HPLC. Diskutovány jsou různé přístupy zavedení deuteria do molekuly steroidu s ohledem na strukturu výchozí látky a stabilitu cílové molekuly, která musí odpovídat určitým kritériím. Dále jsou v této práci představeny konkrétní syntézy vybraných deuterovaných steroidů a diskutovány výhody i nevýhody použitých postupů. Na závěr je naznačeno jejich možné využití v diagnostické praxi.

Stereoselektivní syntéza *S*-glykosidů pomocí fotochemie

Bc. Nikola Kopalová (M2)

Školitel: Ing. Kamil Parkan, Ph.D.

Stereoselektivní syntéza *S*-glykosidů pomocí fotochemie Využití sacharidů, jejich derivátů a glykokonjugátů je v oblasti medicíny velmi hojné. Takovéto látky se v organismu účastní mnoha biologických procesů, do kterých mohou v případě patologické změny zasáhnout jakožto léčiva. Využití *S*-glykosidů má oproti *O*-glykosidům tu výhodu, že jsou stabilnější vůči vlivům, které na ně působí v organismu – kyselá či enzymatická hydrolýza. Aryl α -*S*-glykosidy odvozené od D-glukosy či D-galaktosy jsou obtížně připravitelné látky z důvodu sterických vlastností molekuly a anomernímu efektu sacharidů, avšak jejich využití jakožto terapeutik by mohlo být potenciálně výhodné z důvodu vyšší selektivity a vyšší biologické aktivity¹. Tyto látky se konkrétně zkoumají jako potenciální inhibitory galektinů. Cílem této práce je provést a optimalizovat stereoselektivní reakci vedoucí k aryl α -*S*-glykosidům s využitím fotochemie. Jde o thiol-enovou radikálovou adici s využitím organokatalyzátoru Mes-Acr-Me⁺BF₄⁻ za aktivace modrým zářením o $\lambda_{\text{max}} = 456$ nm vycházející z 2-hydroxyglukalu I. 1. Zetterberg, F. R.; et. al. *ChemMedChem* 2018, 13, 133-137.



PG = chránící skupina

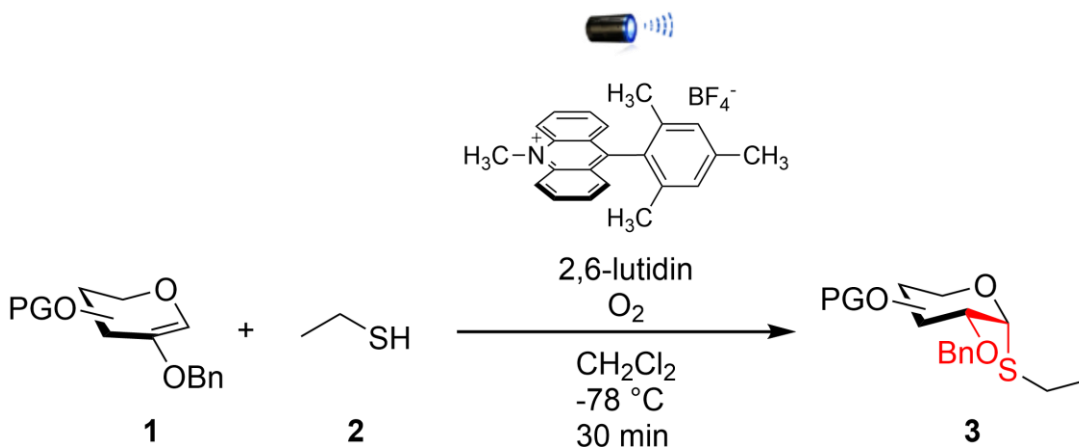
Mes-Acr-Me⁺ = 9-mesityl-10-methylacridinium

Stereo- a regioselektivita fotochemické radikálové adice při syntéze S-glykosidů

Bc. Dana Králová (M2)

Školitel: Ing. Kamil Parkan, Ph.D.

Hydrolytická labilita *O*-glykosidové vazby v mnoha přírodních glykosidech bývá limitujícím faktorem terapeutického využití těchto látek *in vivo*. Bylo však prokázáno, že sirná analoga, *S*-glykosidy, chemické i enzymatické hydrolýze snadno odolávají a zároveň si zachovávají své potenciální biologické využití¹. Pro přípravu těchto látek je možné využít radikálovou adici thiolu na dvojnou vazbu v sacharidech, jež byla doposud iniciována pouze UV zářením². Značnou nevýhodou tohoto způsobu iniciace je však nutnost ekvivalentního množství radikálového iniciátoru a drahé speciální vybavení. Z tohoto důvodu jsme se zaměřili na ekonomicky výhodnější thiol-enovou reakci iniciovanou modrým viditelným zářením s využitím katalytického množství iniciátoru. Cílem práce bylo studovat vliv struktury nenasyceného cukerného derivátu na selektivitu této reakce a připravit odpovídající ethyl 1-thio-glykosidy. Reakcemi 2-benzyloxyglykalů **1** s ethanthiolem (**2**) byly s vysokou regio- i stereoselektivitou připraveny ethyl 2-benzyloxy-1-thio-glykopyranosidy **3** výhradně s 1,2-*cis*-konfigurací ve 35-60% výtěžcích. 1. Ito, K. et al. *Angiogenesis* 2011, 14 (3), 293-307. 2. Kelemen, V. et al. *Chem. Eur. J.* 2019, 25, 14555-14571.



Syntéza a charakterizace derivátů kyseliny betulinové jako maturačních inhibitorů

Bc. Jan Mazel (M2)

Školitel: Ing. Michal Jurášek, Ph.D.

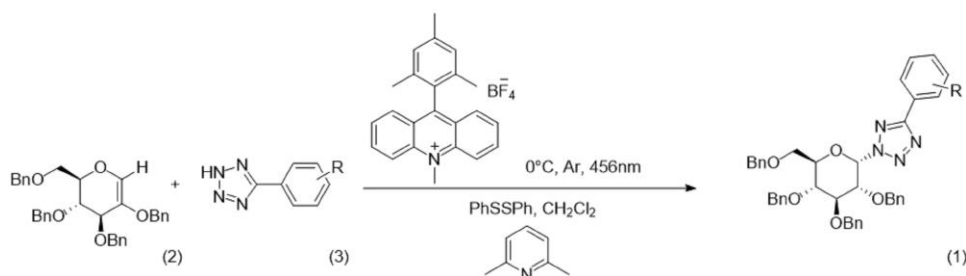
V tomto projektu rozvíjíme výzkum okolo kyseliny betulinové (BA). Deriváty BA obsahující esenciální farmakofor látky známé jako bevirimat (BVM; 3-*O*-(3',3'-dimethylsuccinyl)-BA) našly potenciální uplatnění při léčbě HIV-pozitivních pacientů. Mechanismus účinku BVM spočívá v inhibici zrání virové částice (=maturace) po výstupu z buněk imunitního systému. Hlavní příčinou neúspěchu BVM v klinickém testování byl vznik rezistence kvůli polymorfní mutaci v Gag-polyproteinu. V rámci této konference bude prezentována syntéza dvou typů stavebních bloků navržených pro přípravu analogů BVM. První přístup je založen na přípravě C-28 substituovaného, *N*-azidoacetylovaného piperazinylového prekursoru BVM pro modifikace prostřednictvím 1,3-dipolární cykloadice (CuAAC). Ligandovými partnery CuAAC reakcí byly substituované aromatické alkyny. Druhým přístupem byla syntéza prekursoru BVM substituovaného přes C-28 karboxylovou skupinu, tentokrát *N*-propargylpiperazinylovou skupinou. Alkynová skupina je využita k přípravě trojnou vazbou vázaných aromatických derivátů. Syntéza těchto látek se uskutečňuje prostřednictvím Sonogashira cross-coupling reakce, kde ligandovými partnery byly substituované jodo-aryly. Látky budou následně poskytnuty pro testování na BVM-rezistentních variantách HIV.

Stereoselektivní syntéza substituovaných α -D-glukopyranosyl tetrazolů

Ondřej Orság (B3)

Školitel: Ing. Kamil Parkan, Ph.D.

V naší práci jsme k problému stereo- a regioselektivní syntézy α -N-glykosyl azolů (1) přistoupili cestou fotochemicky katalyzované radikálové reakce glykalu (konkrétně glukalu) iniciované viditelným světlem, což je poměrně moderní přístup k syntéze těchto látek. Cílem práce bylo studium reaktivity a stereoselektivity fotochemické reakce 2-hydroxy-D-glykalu (2) a komerčně dostupných nebo i námi připravených tetrazolů (3) poskytující α -N-glykosyl azoly (3). Jako fotokatalyzátor jsme použili komerčně dostupný 9-mesityl-10-methyl(akridinium) tetrafluoroborát (3). Naše syntéza vycházela z perbenzylovaného 2-hydroxy-D-glukalu (2). Benzylové chránění zde bylo zvoleno cíleně, neboť jak bylo zjištěno v naší laboratoři, benzyleterové chránění je důležité pro samotný průběh fotochemické reakce, a to i z hlediska stereo- a regioselektivity. Za těchto podmínek byla reakce regio- i stereoselektivní a očekávané N-glykosyl azoly (1) byly získány výhradně s 1,2-cis-konfigurací ve výtěžcích okolo 39-75%.



Amidy vybraných triterpenoidů

Bc. Daniel Slanina (M2)

Školitel: prof. Ing. Zdeněk Wimmer, DrSc.

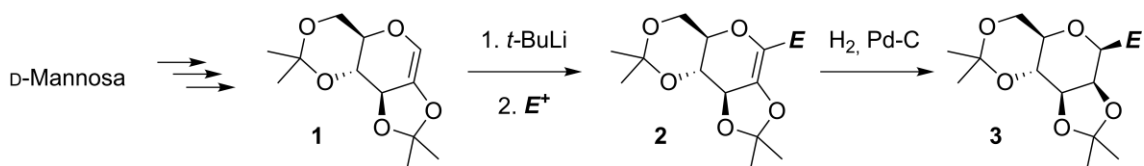
Triterpenové kyseliny, mezi které patří mimo jiné kyseliny ursolová, oleanolová nebo platanová, jsou široce rozšířené přírodní látky, které vykazují mnohé farmakologicky zajímavé vlastnosti, jakými jsou účinky antibakteriální, antivirové, protirakovinné a mnohé další. Nevýhodou triterpenů je však jejich nízká rozpustnost ve vodě a z toho vyplývající malá biodostupnost, což možnosti jejich léčebného použití omezuje. Proto již bylo vyvinuto mnoho způsobů, jak jejich molekuly modifikovat s cílem zvýšit jejich rozpustnost ve vodě a jejich biodostupnost. Mezi tyto způsoby typicky patří tvorba jejich glykosidů, esterů nebo amidů. Z amidů jsou velmi zajímavé amidy triterpenových kyselin, odvozené od aromatických aminů. Takovéto modifikace nejenže mohou zvyšovat vodnou rozpustnost i biodostupnost, ale tyto látky rovněž mnohdy vykazují selektivní cytotoxické působení proti rakovinným buňkám. Obecně však tvorba amidů ani jiných funkčních derivátů triterpenových kyselin není snadnou záležitostí, vzhledem ke sterickému bránění jejich funkčních skupin. V této práci byl vyvinut několikakrokový postup amidace kyseliny oleanolové a ursolové s použitím aromatického 5-amino-1,10-fenantrolinu, použitelný i pro jiné aromatické aminy.

Stereoselektivní syntéza C-glykosidů z 2,3:4,6-di-O-isopropyliden-D-glukalu

Bc. Karel Tůma (M1)

Školitel: Ing. Kamil Parkan, Ph.D.

C-glykosidy, neboli glykosyl alkany, alkeny, alkyny či areny patří mezi glykomimetika, která jsou ve srovnání s O-glykosidy stabilní vůči kyselé a enzymatické hydrolýze a mají tak potenciálně vyšší terapeutické využití.¹ Pro jejich přípravu se často využívají 1,2-nenasycené deriváty sacharidů – glykaly.² Jejich nevýhodou je však nutnost oxidace vedoucí k zavedení kyslíku na C-2 uhlík v následujících krocích syntézy.³ V této práci jsme se zaměřili na syntézu C-glykosidů z derivátů 2-hydroxyglykalů, které by již tento oxidační krok nevyžadovaly. Pro tento účel byl připraven 2:3,4:6-di-O-isopropyliden-D-glukal **1**, který lze snadno a selektivně lithiovat na C-1 uhlíku. Následnou reakcí s elektrofilními činidly (E^+) lze připravit řadu 1,2-nenasycených C-glukosidů **2**, které lze s vysokou stereoselektivitou reduktivně transformovat na β -C-mannopyranosidy **3** ve vysokých výtěžcích.⁽¹⁾ McCarter, J. D., et al. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 1994, 4, 885.⁽²⁾ Panesar, H. K. et al. *Org. Biomol. Chem.* 2015, 13, 2879.⁽³⁾ Alexander G Tolstikov et al. *Russ. Chem. Rev.* 1993, 62, 579.



Pyrazinový motiv v derivatizaci vybraných triterpenoidů, jejich samoskladba a biologická aktivita

Bc. Natálie Šiplerová (M2)

Školitel: prof. Ing. Zdeněk Wimmer, DrSc.

Morolová a moronová kyselina jsou pentacyklické triterpenoidní kyseliny. Triterpeny a triterpenoidy jsou studovány pro jejich protizánětlivé, hepatoprotektivní, antimikrobiální, analgetické, antitumorové, virostatické a imunomodulační účinky. Vzhledem k jejich vysoké biologické aktivitě a nízké toxicitě jsou vhodnými kandidáty pro vývoj nových léčiv. To vedlo ke snaze syntetizovat semisyntetické deriváty s vyšší biologickou aktivitou, ale se zachováním nízké toxicity. Moronová kyselina vyniká antibakteriální a anti HIV aktivitou a také má schistomicidní účinky. Zajímavé jsou především amidové deriváty triterpenových kyselin, které obvykle zvýší biologickou aktivitu v porovnání s matečnou kyselinou. Nejvíce účinné se zdají kombinované deriváty, které jsou modifikované, jak na C-3 tvorbou esteru, tak na C-28 tvorbou amidové vazby. Cílem mé práce je tvorba amidů s pyrazinovým motivem pomocí převedení kyseliny na reaktivnější chlorid, které je následováno reakcí s vybraným aminem v přítomnosti báze. Tyto získané deriváty jsou následně doplňovány modifikacemi s různými estery do polohy C-3 ve snaze získat lepší farmakologické vlastnosti.

Ústav chemie přírodních látek II

MÍSTO: RESPIRIUM

KOMISE

prof. Dr. RNDr. Oldřich Lapčík (předseda)

Ing. Elena Prokudina, Ph.D.

Ing. Jakub Kaminský, Ph.D.

PROGRAM

zahájení

[Adéla Bohatá](#) (B3, PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.)

Studium farmakokinetiky baeocystinu a norpsilocinu v tkáních metodou HPLC-MS

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

Chirální separace inherentně chirálních makrocyclických receptorů

[Bc. Kateřina Knížková](#) (M2, PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.)

*Stanovení bioaktivních látek maralího kořene (*Rhaponticum carthamoides*)*

[Bc. Lukáš Mazur](#) (M2, None)

Vliv epigenetických změn na vybrané fytohormony a transkripty zahrnuté v imunitní reakci rostlin

[Bc. Kateřina Obytová](#) (M2, doc. Ing. Martin Kuchař, Ph.D.)

Stanovení CBD a jeho metabolitů v potkaním séru metodou HPLC-MS

[Pavλίna Soukupová](#) (B3, PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.)

Stanovení ostarinu v doplňcích stravy metodou HPLC-MS

vyhlášení výsledků

Studium farmakokinetiky baeocystinu a norpsilocinu v tkáních metodou HPLC-MS

Adéla Bohatá (B3)

Školitel: PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.

Baeocystin patří do skupiny tryptaminových alkaloidů, jedná se o derivát psilocybinu. Vyskytuje se v různých druzích hub, nejznámější je rod *Psilocybe*. Tyto houby jsou zdrojem psychoaktivních látek patřících mezi halucinogeny. Pro správné pochopení účinků těchto látek je vhodné získat co nejvíce informací o jejich chování v organismu. Práce se týká studia farmakokinetiky baeocystinu a jeho metabolitu norpsilocinu v potkaních tkáních, konkrétně v játrech, plicích a mozku. Pro vývoj metody jsou použity vepřové tkáně. Zkoušeny jsou různé postupy zpracování tak, aby bylo dosaženo výtěžnosti dostatečné pro stanovení v reálných vzorcích. Metoda bude následně použita pro stanovení baeocystinu a norpsilocinu v potkaních tkáních.

Chirální separace inherentně chirálních makrocyclických receptorů

Bc. Kristýna Fedorová (M2)

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

Chirální analýza dnes hraje významnou úlohu v mnoha odvětvích, a to nejen co se týká forenzních aplikací, ale je důležitá i při vývoji agrochemikálií a výzkumu potravinářských aditiv. Pro tyto účely je možné využít inherentně chirální makrocyclické receptory, kalixareny. Ve forenzní analýze byly kalixareny již využity například jako receptory pro chirální rozpoznání nových psychoaktivních látek. Samotná enantiomerní čistota výchozích látek je ovšem zásadní při vývoji těchto nových receptorů a pro její zajištění je důležitý vývoj nových metod chirální separace. Jelikož jsou enantioseparační metody zaměřené na tento typ látek omezené a využívají hlavně metod kapalinové chromatografie, je tato práce věnována vývoji metody za využití relativně nové techniky, superkritické fluidní chromatografie (SFC), jež přináší řadu výhod ve srovnání s ostatními separačními technikami. Chirální stacionární fáze (CSP) použité pro tuto práci jsou na bázi polysacharidů. Jelikož potenciál těchto kolon k enantioseparaci obecně nelze předem určit, byly vybrány 4 různé CSP. Bude studováno složení mobilní fáze, a to konkrétně vliv modifikátorů, kyselých a bazických aditiv, na separaci enantiomerů kalixarenů. Dále bude zjišťován vliv chromatografických parametrů, jako je teplota kolony, průtok a tlak.

Stanovení bioaktivních látek maralího kořene (*Rhaponticum carthamoides*)

Bc. Kateřina Knížková (M2)

Školitel: PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.

Maralí kořen (*Rhaponticum carthamoides*) je rostlina hojně využívaná v tradiční medicíně. Obsahuje biologicky aktivní látky, které mají příznivý účinek na lidský organismus. Cílem práce je vybrat některé z těchto látek, optimalizovat jejich extrakci a pomocí metody HPLC-MS/MS je analyzovat jak v rostlině samotné, tak v produktech dostupných na trhu. V první části jsem se zaměřila na stanovení steroidních látek. Optimalizovala jsem extrakci 20-hydroxyekdysonu a polypodinu B. Vyzkoušela jsem různá extrakční činidla (50–70% methanol a ethanol) a časové intervaly (30, 60, 120 minut). Jako nejefektivnější jsem vybrala extrakci 60% ethanolem po dobu 60 minut. V zakoupených produktech se obsah 20-hydroxyekdysonu pohyboval řádově v rozmezí od 0,1 do 1000 µg a obsah polypodinu B od 0,01 do 100 µg na 1 g produktu. Další steroidní látky, konkrétně stigmasterol a β -sitosterol, se špatně ionizují, a proto je pro jejich stanovení pomocí MS nezbytná derivatizace. Vyzkoušela jsem 3 derivatizační činidla, a to dansylchlorid, kyselinu pyridin-2-karboxylovou a 2-fluor-1-methylpyridinium-p-toluensulfonát (FMP). Jako nejvhodnější činidlo se jeví FMP. V dalším kroku jsem se zaměřila na optimalizaci extrakce a derivatizaci analytů takto získaných.

Vliv epigenetických změn na vybrané fytohormony a transkripty zahrnuté v imunitní reakci rostlin

Bc. Lukáš Mazur (M2)

Školitel: None

Rostliny jsou každodenně nuceny čelit množství stresu, se kterým se během evoluce musely naučit vypořádávat a vyvinout si specifické obranné mechanismy. Důležitými faktory, které mohou hrát roli v obranných drahách, jsou i epigenetické mechanismy, jako je metylace DNA nebo histonové modifikace. V této práci se zabýváme vlivem epigenetických mechanismů, kyseliny beta-aminomáselné (BABA) a jejich vzájemného působení na transkripty genů *SOBIR1*, *WRKY33*, *RBOHD*, *JAZ1*, *SARD1* a *SGT1B* účastnících se obranných drah u linií *A. thaliana Col-0*, *ddm1* a *ibm1*. Z porovnání hladin transkriptů vybraných genů u linií *Col-0*, *ddm1* a *ibm1*, bylo zjištěno, že u linie *ddm1* došlo k největšímu snížení regulace exprese, zatímco u linie *ibm1* byla snížená regulace pouze u dvou genů a zbytek zůstal beze změny. Dále byla stanovována změna hladin transkriptů vybraných genů po přidání 0,5mM BABA k jednotlivým liniím. Změna hladin transkriptů byla pozorována pouze u mutantních linií *ddm1* a *ibm1*, kde však u většiny genů rovněž nedošlo k významné změně. Výjimku tvořil gen *JAZ1* u linie *ddm1* vykazující zvýšenou regulaci a geny *SOBIR1* a *RBOHD* u linie *ibm1* vykazující naopak sníženou regulaci.

Stanovení CBD a jeho metabolitů v potkaním séru metodou HPLC-MS

Bc. Kateřina Obytová (M2)

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

Kanabidiol (CBD) je jedním z hlavních zástupců fytoKANABINOIDŮ, což jsou farmakologicky aktivní sloučeniny produkované rostlinami rodu konopí. Jedná se o látku se širokým léčebným potenciálem, ve smyslu rozsáhlých neuroprotektivních účinků, redukce zánětu či mírnění neuropatické bolesti. Poslední dobou pozorujeme vzrůstající trend v užívání konopných produktů a s ním spojený rychlý rozvoj trhu s rozmanitými výrobky, které obsahují široké spektrum fytoKANABINOIDŮ, v němž ale převládá CBD. S popularitou konopných produktů roste i potřeba nových analytických metod pro spolehlivou analýzu fytoKANABINOIDŮ a jejich metabolitů v různorodých matricích. Pro analýzu fytoKANABINOIDŮ v biologických matricích je kvůli jejich velmi nízké koncentraci vyžadována značně citlivá a spolehlivá analytická metoda. Cílem této práce je vyvinout a validovat metodu kapalinové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (HPLC-MS) vhodnou pro kvalitativní a kvantitativní analýzu CBD a jeho hlavních metabolitů (7-OH-CBD a 7-COOH-CBD) v potkaním séru. Tato metoda bude použita pro analýzu reálných vzorků séra, které byly získány v rámci experimentu transdermálního přenosu CBD, kdy byly laboratorním zvířatům aplikovány přípravky obsahující tento fytoKANABINOID.

Stanovení ostarinu v doplňcích stravy metodou HPLC-MS

Pavlína Soukupová (B3)

Školitel: PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.

Ostarin patří do skupiny selektivních modulátorů androgenních receptorů (SARM). Používá se pro svůj pozitivní vliv na růst svalové a kostní hmoty. Pro své schopnosti selektivní vazby na androgenní receptory kosterního svalstva (na rozdíl od steroidů, které se váží na veškeré androgenní receptory v těle) je zneužíván zejména kulturisty pro rychlý nárůst svalové hmoty a vidinu absence vedlejších účinků, které byly spojeny s anabolickými steroidy. Od roku 2008 je ostarin a další látky ze skupiny SARMs zařazen na seznam WADA a jeho užití ve sportu je považováno za doping. Cílem práce je optimalizovat a validovat metodu stanovení ostarinu v doplňcích stravy. Studován je vliv několika rozpouštědel na výtěžnost ostarinu z různých matric (laktóza, mikrokrytalická celulóza a další). Porovnávají jsou také matriční efekty. Pro stanovení ostarinu je použita metoda HPLC-MS/MS.