



FAKULTA POTRAVINÁŘSKÉ
A BIOCHEMICKÉ TECHNOLOGIE
VŠCHT PRAHA

Studentská Vědecká Konference

2023

23. 11. 2023

SBORNÍK ANOTACÍ

Fakulta potravinářské a biochemické technologie

Organizační tým

FAKULTNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Michaela Marková, Ph.D.

Mgr. Blanka Morchová

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOŘI

[319](#) ÚSTAV BIOTECHNOLOGIE

prof. Dr. Ing. Michaela Rumlová

[320](#) ÚSTAV BIOCHEMIE A MIKROBIOLOGIE

doc. Ing. Mgr. 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

prof. Dr. Ing. Michaela Rumlová

SEZNAM SEKCIÍ

1. [Biotechnologie I](#)
2. [Biotechnologie II](#)

Biotechnologie I

MÍSTO: A111, PRACOVNA VEDOUCÍHO ÚSTAVU BIOTECHNOLOGIE

KOMISE

doc. Ing. Olga Maťátková, Ph.D. (předseda)

doc. Ing. Barbora Branská, Ph.D.

Ing. Marcel Karabín, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

[Bc. Adéla Foglarová](#) (M2, prof. Ing. Jan Masák, CSc.)

Hledání vhodných podmínek přípravy stříbrných nanočástic s využitím ligninu

[Bc. Kristián Hrabica](#) (M2, doc. Ing. Irena Jarošová, Ph.D.)

Vliv netermálního plazmatu na houbový biofilm

[Bc. Lucie Korbová](#) (M2, doc. Ing. Irena Jarošová, Ph.D.)

Siderofory jako faktor virulence u patogenního kmene Escherichia coli

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

Testování biostimulačního potenciálu zástupců rodu Bacillus

[Bc. Daniela Nečasová](#) (M1, prof. Dr. Ing. Michaela Rumlová)

Produkce a zavedení metody na testování aktivity exoribonukleasy nsp14 SARS-CoV-2

[Dominik Čech](#) (M2, Ing. Lukáš Jelínek, Ph.D.)

Rmutování surogovaných várek pomocí komerčních enzymatických preparátů

[Bc. Matej Čechot](#) (M2, prof. Dr. Ing. Petra Patáková)

Produkce sekundárních metabolitů houbou Monascus za stresových podmínek

[Bc. Karolína Žižková](#) (M2, prof. Dr. Ing. Petra Patáková)

Mikrobiální produkce glycerolu

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - BIOTECHNOLOGIE I

arxada



bioTch
innovative

labmark

avantor™

 **SHIMADZU**
Excellence in Science

MERCK

 **BECKMAN
COULTER**

Hledání vhodných podmínek přípravy stříbrných nanočástic s využitím ligninu

Bc. Adéla Foglarová (M2)

Školitel: prof. Ing. Jan Masák, CSc.

Se zvyšující se rezistencí patogenních bakterií vůči antibiotikům roste motivace k vývoji nových terapeutických prostředků s antimikrobiálními účinky. Jedním ze současných přístupů jsou díky svým unikátním fyzikálně-chemickým vlastnostem stříbrné nanočástice (AgNPs). Předmětem této práce bylo nalezení vhodných podmínek syntézy AgNPs pomocí ligninu a jejich charakterizace. Byl sledován vliv vstupní koncentrace ligninu a vzájemný reakční poměr mezi Ag a ligninem. Analýza vzniklých AgNPs probíhala na základě dat naměřených pomocí UV-VIS spektrofotometrie, dynamického rozptylu světla, transmisní elektronové mikroskopie a stanovením zeta potenciálu. Jako vhodné podmínky syntézy byl vyhodnocen hmotnostní poměr Ag a ligninu 0,23 při vstupní koncentraci ligninu 10 g/L. Takto připravené AgNPs vykazují uniformní morfologii, náboj v rozmezí -40 až -30 mV a jejich jádro je tvořeno Ag^0 . Připravené AgNPs budou dále testovány z hlediska antimikrobiální aktivity vůči *Pseudomonas aeruginosa*.

Vliv netermálního plazmatu na houbový biofilm

Bc. Kristián Hrabica (M2)

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

Mikrobiální kontaminace má každoročně znatelný ekonomický dopad na potravinářský průmysl a zároveň může představovat vážná zdravotní rizika. Mimo to představuje problém i ve zdravotnických zařízeních. Velkou překážkou při sterilaci potravin, zařízení či nástrojů představuje mikrobiální biofilm. Buňky biofilmu mají od volných planktonních buněk odlišný fenotyp, a jsou obaleny ochrannou vrstvou extracelulární matrix, díky čemuž lépe odolávají nepříznivým podmínkám. Tato práce zkoumá účinek netermálního plazmatu (NTP) na spory a biofilm čtyř vybraných vláknitých hub (*Alternaria alternata*, *Fusarium graminearum*, *Aspergillus niger* a *Fusarium culmorum*), které bývají kontaminanty jak v potravinářském průmyslu, tak v lékařských zařízeních. NTP ničí buňky zejména tvorbou reaktivních forem kyslíku a dusíku, dále vznikem UV záření a případně elektroporací. NTP bylo vysoce účinné na spory všech zkoumaných mikromycet a díky jeho efektivnímu působení na biofilm hub by bylo možné ho průmyslově využít jako dekontaminační nástroj.

Siderofory jako faktor virulence u patogenního kmene Escherichia coli

Bc. Lucie Korbová (M2)

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

V této práci jsou zkoumány způsoby detekce molekulárních mechanismů *E. coli*, uropatogenního kmene CCM 5172, zaměřené na produkci sekundárních metabolitů konkrétně sideroforů. V kontextu patogeneze *E. coli* jsou siderofory klíčovými molekulami, které umožňují získat železo z hostitelského prostředí pro svůj růst a šíření infekce. Profil sekretovaných sideroforů v závislosti na růstových fázích byl sledován pomocí metabolické analýzy za použití kapalinové chromatografie s hmotnostním spektrometrem. Morfologická analýza kmene byla prováděna pomocí rastrovací elektronové mikroskopie. Hmotnostní spektrometrií byly detekovány tři produkované siderofory, konkrétně aerobaktin, enterobaktin a salmochelin. Vedle těchto hlavních sideroforů byly identifikovány i jejich degradační produkty, konkrétně lineární enterobactin, dimerní enterobaktin, DHBS a salmochelin S2, S5 a SX. Pomocí rastrovací elektronové mikroskopie byly charakterizovány morfologické vlastnosti kultury ve fázi agregovaných buněk. Dále bude vytvářen *in vitro* model tvorby biofilmu *E. coli* na mozkových endoteliálních buňkách (hBMEC) a přechodu patogenu přes endoteliální vrstvu tvořící primární hematoencefalickou bariéru mozku.

Testování biostimulačního potenciálu zástupců rodu Bacillus

Bc. Zuzana Laudová (M2)

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

Mikrobiálne rastlinné biostimulanty sú prípravkami, ktorých účinnú zložku predstavujú mikroorganizmy alebo ich produkty, a ktorých primárnou vlastnosťou je schopnosť stimulácie rastu rastlín. V pôdnom prostredí, rhizosfére a endosfére rastlín je predominantným rodom *Bacillus*, sekretujúci radu metabolitov, ktoré svojím účinkom podporujú rast a stresovú toleranciu rastlín. Cieľom screeningovej štúdie daného rodu bolo determinovať biostimulačný potenciál 3 izolátov s potvrdenou produkciou chytinolytických enzýmov, izolovaných z koreňovej čističky odpadných vôd. V rámci experimentálnej časti bola ako prvé stanovená fytotoxicita izolátov, založená na metóde ovplyvnenia klíčenia semien šalátu – lociky satej (*Lactuca sativa* L.). Druhou časťou screeningu bolo sledovanie vplyvu bakteriálnych izolátov na rast a zdravie tejto rastliny. Za pomoci bezkontaktnéj kultivácie na agarových pôdach bol stanovený biostimulačný potenciál prípadných prchavých organických látok, produkovaných mikroorganizmami. Druhý spôsob bol založený na inokulácii semien mikroorganizmami a ich pestovaní na agarovej pôde. Za účelom vyhodnotenia bola využitá multispektrálna analýza a 3D skenovanie nasledované obrazovou analýzou. Bol vyhodnotený vplyv mikroorganizmov na nadzemné časti rastliny aj koreňový systém.

Produkce a zavedení metody na testování aktivity exoribonukleasy nsp14 SARS-CoV-2

Bc. Daniela Nečasová (M1)

Školitel: prof. Dr. Ing. Michaela Rumlová

SARS-CoV-2 (z angl. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) způsobil značné pozdvižení ve světě kvůli vyvolané pandemii. Nyní jsou jedinými užívanými léčivými analogy nukleotidů (např. Remdesivir®), které se dokáží inkorporovat do virové RNA a zastavit její replikaci. SARS-CoV-2 však disponuje neobvyklou exoribonukleasovou aktivitou, kterou využívá k opravě chyb během replikace, čímž může vznikat rezistence vůči zmíněným léčivům. Opravný mechanismus je proto předmětem studií v oblasti návrhu nových léčiv, jeho inhibice by mohla významně zvýšit účinnost již používaných léčiv, nebo být pro virus až letální. Samotná exoribonukleasa je tvořena nestrukturním proteinem nsp14 (z angl. non-structural protein) nesoucím hlavní enzymovou aktivitu a nsp10, který působí jako kofaktor a násobně zvyšuje aktivitu. V rámci tohoto projektu jsme pro testování aktivity exoribonukleasy nejprve optimalizovali bakteriální produkci proteinů nsp14 a nsp10 a jejich následnou purifikaci pomocí série chromatografických metod. Poté jsme zavedli a optimalizovali metodu založenou na inkubaci exoribonukleasy s fluorescenčně značenou RNA s následnou elektroforetickou analýzou. Takto připravený systém může být využit pro studium opravného mechanismu SARS-CoV-2 i pro testování inhibitorů tohoto procesu.

Rmutování surogovaných várek pomocí komerčních enzymatických preparátů

Dominik Čech (M2)

Školitel: Ing. Lukáš Jelínek, Ph.D.

Surogace piva nesladovanými obilovinami je v posledních letech velkým trendem po celém světě, a to zejména z ekonomických a ekologických důvodů. Při vyšších surogačních dávkách může ovšem docházet ke snížení efektivity rmutování kvůli nedostatečné enzymatické přístupnosti cereálních makromolekul a nízké koncentraci enzymů. V této práci bylo provedeno laboratorní rmutování s přidavkem nativní a upravené (napařované, extrudované) mouky za pomoci komerčních mikrobiálních enzymů používaných v pivovarství (α -amyláza, α -glukosidáza a proteáza). Bylo zjištěno, že efektivita rmutování roste v pořadí nativní < napařovaná < extrudovaná mouka. Opačné pořadí bylo ovšem stanoveno pro filtrovatelnost sladiny. Obě formy upravené mouky rovněž poskytují mírně sníženou koncentraci FAN. U přidavku jednotlivých enzymů bylo zjištěno, že α -amyláza a α -glukosidáza nejvíce zefektivnily proces rmutování s nativní moukou. V případě proteázy byl nejvyšší nárůst koncentrace volného aminodusíku pozorován u extrudované mouky. Použití tohoto enzymu na nativní mouku mělo velmi příznivý vliv rovněž na vývoj extraktu, který se ovšem projevil zejména na koncentraci maltotriózy, maltózy a glukózy.

*Produkce sekundárních metabolitů houbou *Monascus* za stresových podmínek*

Bc. Matej Čechot (M2)

Školitel: prof. Dr. Ing. Petra Patáková

Huba *Monascus*, často nazývaná aj ako červená vláknitá huba, je fascinujúcim druhom húb, ktorý sa vyskytuje v rôznych častiach juhovýchodnej Ázie. Pigmenty produkované hubou *Monascus* majú pozitívny vplyv na ľudské zdravie, a preto sa široko využívajú v potravinárskom a farmaceutickom priemysle. Medzi ich prospešné účinky patrí prevencia srdcovo-cievnych ochorení, protizápalové vlastnosti a protirakovinové účinky. Konkrétny druh huby *Monascus* dokáže za určitých podmienok produkovať sekundárne metabolity, vrátane pigmentov, citrinínu, monakolínu K a ďalších. Tieto sekundárne metabolity sa vyznačujú polyketidovou štruktúrou a biologickou aktivitou. Existujú tri hlavné páry polyketidových pigmentov produkovaných hubou *Monascus*, ktorých analógy sa líšia dĺžkou bočného reťazca: žlté (ankaflavín, monascín), oranžové (rubropunktatin, monaskorubrin) a červené (rubropunktamín, monaskorubramín). V našom výskume sme sa zameriavali na indukovanie stresu pomocou NaCl a peroxidu vodíka a na sledovanie produkcie sekundárnych metabolitov huby *Monascus purpureus* za stresových podmienok. Na tento výskum sme použili kmene *M. purpureus* DBM 4360, *M. purpureus* NBRC 4478 a *M. purpureus* NBRC 4482. Použili sme dva typy kultivácie, konkrétne kultiváciu na pevných a kvapalných médiách.

Mikrobiální produkce glycerolu

Bc. Karolína Žižková (M2)

Školitel: prof. Dr. Ing. Petra Patáková

V dnešní době je nejčastějším způsobem výroby glycerolu transesterifikace tuků, kdy jako hlavní produkt vzniká bionafta a glycerol je až produkt vedlejší. Jelikož má glycerol širokou škálu využití v různých průmyslových odvětvích, může se stát, že v případě poklesu poptávky po bionaftě, nebude množství glycerolu dostačující. Alternativním způsobem výroby glycerolu je mikrobiální produkce. Osmofilní kvasinky jsou schopné produkovat glycerol jako tzv. osmoprotektant v případě, že jsou vystaveny vysokému osmotickému stresu. V této práci byly použity čtyři kmeny osmofilních kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*, přičemž osmotický stres byl vyvolán kombinací vysoké koncentrace substrátu a chloridu sodného v médiu. Glycerol se vytváří jak za aerobních tak za anaerobních podmínek. Experimenty byly nejprve prováděny v baňkách, kdy byla hledána optimální koncentrace substrátu, a kultivaci v bioreaktorech, kdy byl testován vliv kyslíku při různém míchání a aeraci. Kmeny RED a P vykazovaly při vsádkové kultivaci v bioreaktoru podobné chování a zároveň dosahovaly nejvyšších hodnot koncentrace glycerolu – za podmínek: počáteční koncentrace glukosy 200 g/l, 50 g/l NaCl, aerace 1 – 1,5 VVM a míchání 400 – 600 rpm až 4 % glycerolu v médiu.

Biotechnologie II

MÍSTO: A111, KNIHOVNA ÚSTAVU BIOTECHNOLOGIE

KOMISE

doc. Ing. Martin Halecký, Ph.D. (předseda)

Ing. Alžběta Dostálková, Ph.D.

Ing. Jana Michailidu, Ph.D.

PROGRAM

09:00 zahájení

[Bc. Daniela Doubková](#) (M2, Ing. Barbora Branská, Ph.D.)

Regulace tvorby azafilonových pigmentů u Monascus purpureus

[Bc. Lenka Holá](#) (M2, prof. Ing. Jan Masák, CSc.)

Příprava hybridních nanočástic lignin-stříbro a jejich antimikrobiální účinky

[Bc. Michal Knížek](#) (M2, Ing. Marcel Karabín, Ph.D.)

Charakterizace profilu silic a pryskyřic v nových chmelových materiálech

[Bc. Daniel Křížek](#) (M2, prof. Dr. Ing. Petra Patáková)

Clostridium cultivation on seaweed hydrosylate-like substrate

[Bc. Daniel Polák](#) (M2, prof. Ing. Alena Čejková, CSc.)

Vliv nanočástic syntetizovaných pomocí rostlinných extraktů na grampozitivní bakterie

[Bc. Vojtěch Rubeš](#) (M2, Ing. Marcel Karabín, Ph.D.)

Testování využitelnosti POF+ mikroorganismů pro výrobu piva

[Vítězslav Rybář](#) (B3, prof. Dr. Ing. Petra Patáková)

Fermentační produkce glycerolu vybranými kvasinkami

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

Studium přestupu chmelových silic do mladiny a piva

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - BIOTECHNOLOGIE II



**BECKMAN
COULTER**

arxada



bioTch
innovative

labmark

avantor™

 **SHIMADZU**
Excellence in Science

MERCK

*Regulace tvorby azafilonových pigmentů u *Monascus purpureus**

Bc. Daniela Doubková (M2)

Školitel: Ing. Barbora Branská, Ph.D.

Monascus purpureus je vláknitá houba, u které byla zkoumána regulace genové exprese a v závislosti na ní produkce azafilonových pigmentů. Genová exprese byla ovlivňována na epigenetické úrovni pomocí modulátorů. Konkrétně jsem cílila na tři třídy histondeacetylas, které umožňují dekondenzaci chromatinu a přechod do jeho transkripčně aktivní formy. Jako modulátory byly vybrány nikotinamid, butyrát sodný, farnesol a valproová kyselina. Zároveň k dosažení optimálních podmínek, za kterých je výhodné ovlivňovat genovou expresi, byl sledován vliv zdroje uhlíku a pH na tvorbu sekundárních metabolitů. Podařilo se pozitivně ovlivnit produkci sekundárních metabolitů a to nejvíce za využití farnesolu a nikotinamidu. Každý z epigenetických modulátorů ovlivnil produkci sekundárních metabolitů jiným způsobem a to s největší pravděpodobností v důsledku toho, že každý z nich působí na jiný typ histondeacetylas.

Příprava hybridních nanočástic lignin-stříbro a jejich antimikrobiální účinky

Bc. Lenka Holá (M2)

Školitel: prof. Ing. Jan Masák, CSc.

Lignin je jedním z nejhojněji zastoupených přírodních polymerů, který je obsažen v rostlinné biomase. Ačkoliv je v přírodě bohatě zastoupen, většina ligninu je spalována jako odpadní produkt při zpracování dřeva. Použití ligninu k přípravě nanočástic představuje novou možnost jeho utilizace. Organosolv lignin izolovaný z bukového dřeva byl využit k syntéze LigNPs, které sloužily jako vstupní materiál pro syntézu hybridních nanočástic lignin-stříbro. Cílem této práce bylo nalézt vhodné podmínky přípravy LigAgNPs, které byly hodnoceny s využitím AAS, SEM a TEM. Z naměřených dat vyplývá, že příprava LigAgNPs je závislá zejména na pH. Jako vhodné podmínky syntézy byly zvoleny pH 11 a reakční poměr mezi stříbrnými ionty a ligninem obsaženým v NPs ($m_{Ag^+}/m_{Lig} = 0,25$). U takto připravených LigAgNPs byla hodnocena antimikrobiální aktivita v kontextu dvou kmenů *P. aeruginosa*. U obou kmenů byly stanoveny hodnoty MIC pro LigAgNPs v koncentraci ligninu obsaženého v NPs 80 mg/l a 160 mg/l a koncentraci Ag ve stříbrných nanočásticích 10,75 mg/l a 21,5 mg/l, které byly součástí připraveného kompozitu. Tato práce se v další části bude věnovat hodnocením účinku hybridních nanočástic na adhezi *P. aeruginosa*.

Charakterizace profilu silic a pryskyřic v nových chmelových materiálech

Bc. Michal Knížek (M2)

Školitel: Ing. Marcel Karabín, Ph.D.

Chmelové pelety a další, v dnešní době běžně používané, chmelové výrobky, jsou tradičně produkovány prostřednictvím postupů, které mají negativní vliv na obsah a zastoupení sekundárních metabolitů chmele. Použití těchto produktů v pivovarské výrobě má za následek změnu výsledné chuti a aroma piva, které se výrazně liší od původního aroma čerstvého chmele. Moderní chmelové preparáty vyráběné za pomoci technologií, využívajících extrémně nízkých teplot a inertní atmosféry, jako je například vymrazování lupulinových zrn (Cryo Hops®) či lyofilizace, mohou být prostředkem pro omezení těchto nežádoucích dopadů na složení chmelových silic a pryskyřic. Cílem této práce bylo prokázání odlišnosti ve složení chmelových produktů v důsledku přeměn sekundárních metabolitů chmele, jež byly způsobeny termickým a oxidačním zatížením chmelového materiálu v průběhu zpracování na konkrétní typy výrobků. Analýzy chmelových silic, α -, β -hořkých kyselin a z nich odvozených oxidovaných produktů ve vzorcích čerstvého a různě zpracovaného chmele odpovídající odrůdy, ročníku a místa sklizně, by měly být základem pro posouzení rizik a potenciálu pro využití takto zpracovaných chmelů k dodání charakteristických vlastností původního chmele hotovému produktu.

Clostridium cultivation on seaweed hydrosylate-like substrate

Bc. Daniel Křížek (M2)

Školitel: prof. Dr. Ing. Petra Patáková

Biomass sources rich in carbohydrates, such as seaweeds, are currently in focus, as they can potentially be used to produce biofuels through fermentation. This study aimed to expand our understanding of the cultivation process of *Clostridium acetobutylicum* on an ensiled seaweed hydrolysate, mimicking the conditions of an ensiled *Saccharina latissima* seaweed hydrolysate. While *S. latissima* naturally provides interesting saccharides that can be fermented after pretreatment, such as mannitol, laminarin, or cellulose, the process of ensilation enriches the substrate with organic acids that could be used to form solvents as well. We conducted a series of experiments in serum bottles and bioreactors with four variations of a starting medium with an emphasis on following growth, pH trends, morphological traits, solvents and acids production, and substrate utilization (glucose, lactic acid, mannitol). For those experiments, a wild-type strain of *C. acetobutylicum* ATCC 824 and *C. acetobutylicum* ATCC 824 D4-HS, a strain adapted to grow on partially demineralized hydrolysate of *S. latissima*, were used. The findings suggest that *C. acetobutylicum* ATCC 824 may have the potential for fermentation on ensiled seaweed, offering a possible option for obtaining valuable products such as biofuels.

Vliv nanočástic syntetizovaných pomocí rostlinných extraktů na grampozitivní bakterie

Bc. Daniel Polák (M2)

Školitel: prof. Ing. Alena Čejková, CSc.

V oblasti nanotechnologií je výskum zameraný na vývoj nových materiálov s jedinečnými vlastnosťami. Táto práca sa venuje reprodukovateľnej príprave nanočastíc s dôrazom na ekonomickú efektívnosť a minimalizáciu kontaminácie toxickými látkami. Je venovaná "zeleným" metódam, ktoré využívajú biologické činitele, v tomto prípade rastlinné odpady, s dôrazom na biodostupnosť, stabilitu a environmentálnu priaznivosť. Práca sleduje antimikrobiálne účinky a špecificky sa zameriava na syntézu strieborných nanočastíc pomocou zelenej metódy, kde využíva letorasty viniča (*Vitis vinifera*) a časti rastliny konope (*Cannabis sativa*) ako dostupného poľnohospodárskeho odpadu. Výskum analyzuje antimikrobiálne účinky týchto nanočastíc na rezistentné gram-pozitívne baktérie *Staphylococcus aureus* a *Staphylococcus epidermidis*.

Testování využitelnosti POF+ mikroorganismů pro výrobu piva

Bc. Vojtěch Rubeš (M2)

Školitel: Ing. Marcel Karabín, Ph.D.

Fermentační část pivovarské technologie je velice komplexní jev, při kterém vznikají různé skupiny sloučenin, mimo jiné i těkavé fenoly. Těkavé fenoly vznikají metabolickou přeměnou při fermentaci mladiny a hotovému pivu dodávají zejména senzorické vlastnosti, jako například aroma hřebíčku, pražené kávy, vanilky nebo čokolády. Rozvoj řemeslného pivovarství podporuje využívání méně obvyklých kmenů mikroorganismů, které produkují právě tyto sloučeniny. Cílem této práce bylo provést zevrubný screening jednotlivých kmenů a určit konkrétní profil jednotlivých sloučenin. Pozornost byla věnována podstatě fyzikálně-chemických procesů, které se podílejí na tvorbě těkavých fenolů v průběhu pivovarské technologie, s důrazem na parametry fermentace. Praktickým výstupem této práce by pak měl být jakýsi návod, vhodný způsob jakým řídit studenou fázi výroby piva a dosáhnout příznivého profilu těkavých fenolů v pivu, nebo naopak dosáhnout minimalizace jejich vzniku při výrobě pivních stylů, které těkavé fenoly běžně obsahují a mít tak možnost přinášet do pivovarství nové, neznámé produkty a oslovit případně nové konzumenty.

Fermentační produkce glycerolu vybranými kvasinkami

Vítězslav Rybář (B3)

Školitel: prof. Dr. Ing. Petra Patáková

Saccharomyces cerevisiae, se už tisíce let používá k výrobě ethanolu, avšak při jejím fermentačním metabolismu vzniká kromě ethanolu i glycerol při reoxidaci NADH z dihydroxyacetonfosfátu k udržení celkově nulového redoxního potenciálu uvnitř buňky. Zároveň se při osmotickém stresu tvoří glycerol jako stabilizátor osmotického tlaku uvnitř kvasničných buněk. Schopnost tvořit glycerol mají kvasinky, kultivované jak za aerobních, tak za anaerobních podmínek. Cílem práce je nalézt optimální podmínky pro dosažení co nejvyšší koncentrace glycerolu a co nejvyšší výtěžnosti na vnesený substrát za anaerobních podmínek nebo za podmínek limitace kyslíkem. V bioreaktoru byl prováděn pokus se dvěma kmeny kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, konkrétně lihovarskými kmeny *P* a *Red*, při vysoké koncentraci glukózy 200 g/l a s přidavkem NaCl (50 g/l) bez aerace. Nejvyšší dosažená koncentrace glycerolu byla za těchto podmínek u obou kmenů 21 g/l.

Studium přestupu chmelových silic do mladiny a piva

Bc. Lukáš Zadák (M2)

Školitel: Ing. Lukáš Jelínek, Ph.D.

V souvislosti s rostoucím zájmem konzumentů o piva s intenzivnějším chmelovým aroma a s ním spojeným rozvojem pivních stylů se studium chmelových silic dostalo do popředí zájmu mnoha vědeckých skupin. Přesné a rychlé analytické stanovení silic v pivu však bývá značně komplikováno velmi nízkými koncentracemi analytů, jejich strukturální komplexitou a přítomností interferujících sloučenin. Cílem této práce bylo použít optimalizovanou a validovanou HS-SPME-GC/MS metodu k posouzení vlivu spodního a svrchního kvašení a studeného chmelení na přestup chmelových silic do mladiny a piva. K tomuto účelu byla vybrána nově vyšlechtěná česká aromatická chmelová odrůda Eris. V pokusném studeně chmeleném ležáku i pivu typu ale bylo identifikováno celkem 47 identických chmelových silic s největším zastoupením geraniolu, linaloolu a β -citronellolu, které tvořily přes polovinu z jejich celkového množství, přičemž u svrchně kvašeného piva byla absolutní koncentrace silic o více než 30 % vyšší. Po kvašení došlo k nárůstu obsahu většiny oxidovaných silic, zatímco uhlovodíková frakce vykazovala opačný trend. Během studeného chmelení byl po počátečním nárůstu koncentrace chmelových silic (den 1) pozorován její významný pokles po druhém dni doby kontaktu s chmelem následovaný opětovným zvyšováním.

Ústav biochemie a mikrobiologie (320)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

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

Ing. Michaela Marková, Ph.D.

SEZNAM SEKČÍ

1. [Aplikovaná biochemie a bioinformatika](#)
2. [Aplikovaná mikrobiologie](#)
3. [Biomedicínské aplikace I](#)
4. [Biomedicínské aplikace II](#)
5. [Enzymologie](#)
6. [Interakce v biologických systémech](#)
7. [Mikrobiologie](#)
8. [Proteomika](#)

SPONZOŘI



Aplikovaná biochemie a bioinformatika

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

doc. Ing. Hana Stiborová, Ph.D. (předseda)

Ing. Michal Strejček, Ph.D.

Ing. Hana Sýkorová, Ph.D.

Ing. Simona Lencová, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

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

Proteomická diferenciace krevní plasmy pacientů s cirhózou a hepatocelulárním karcinomem

[Bc. Filip Kapral](#) (M2, prof. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.)

Hľadanie nových väzobných miest pre liečiva pomocou metadynamiky

[Štěpánka Lanková](#) (B3, prof. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.)

Vývoj nové metody pro konformační modelování peptidů

[Bc. Anna Petrová](#) (M2, prof. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.)

Vývoj datasetu pro hledání nízkomolekulárních ligandů proteinů pomocí strojové učení

[Bc. Hana Selicharová](#) (M2, Ing. Jiří Fusek)

Charakterizace NAFLD v potkaních modelech obezity

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

Zavedení systému pro identifikaci potenciálních antibiotických adjuvans

[Max Štětina](#) (B3, Ing. Eva Benešová, Ph.D.)

The use of bioinformatics tools in development of a new nomenclature for L-asparaginases

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - APLIKOVANÁ BIOCHEMIE A BIOINFORMATIKA



Bene Meat
Technologies

Proteomická diferenciacie krevní plasmy pacientů s cirhózou a hepatocelulárním karcinomem

Bc. Andrea Brožková (M2)

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

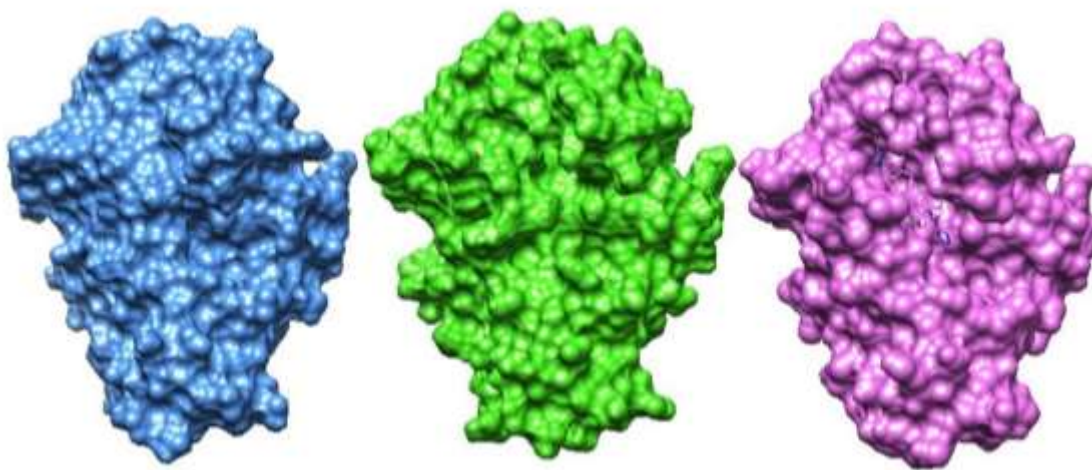
Cirhóza jater je závažné onemocnění charakterizované ztrátou funkce jater a významným zvýšením rizika vzniku hepatocelulárního karcinomu. V dnešní době je cirhóza a hepatocelulární karcinom příčinou 3,5 % všech celosvětových úmrtí. Tato onemocnění často zůstávají asymptomatická až do pokročilých stadií, což komplikuje jejich diagnostiku a léčbu. K jejich diagnostice jsou používány nespecifické krevní biomarkery, některé zobrazovací techniky jako počítačová tomografie a magnetická rezonance nebo invazivní biopsie jater. Cílem práce je nalezení a sestavení specifických panelů proteinových biomarkerů v krevní plazmě, které umožní rychlejší a přesnější diagnostiku zmíněných onemocnění a které povedou k účinnější léčbě a lepší prognóze pacientů. K rozlišení skupin pacientů s cirhózou a hepatocelulárním karcinomem byla využita hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF, získaná spektra byla zpracována pomocí analýzy hlavních komponent a pro další zpracování a analýzu dat byl použit databázový systém PostgreSQL, ke kterému se přistupovalo pomocí nástroje pgAdmin. Tímto způsobem byly získány hodnoty m/z odlišující jednotlivé skupiny. V budoucnu je plánováno využít i hmotnostní spektrometrii LC-MS/MS, která spolu se statistickým zpracováním pomůže identifikovat potenciální proteinové biomarkery.

Hľadanie nových väzobných miest pre liečiva pomocou metadynamiky

Bc. Filip Kapral (M2)

Školiteľ: prof. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.

Ako sa medicína a veda posúva vpred ľudstvo sa snaží nachádzať rôzne spôsoby ako bojovať proti infekčným agens, ktoré nás obklopujú. Cieľom tejto práce je vyhľadávanie miest na proteíne, do ktorých by sa viazali nízkomolekulárne liečiva. Tieto látky sú schopné sa viazať do funkčného miesta enzýmu alebo na väzobné miesta receptora. Postupným vývojom v oblasti biochémie sa snažíme hľadať aj liečiva, ktoré by boli schopné viazať sa na proteín ale nie do aktívneho miesta. Tieto miesta, cryptic pockets, sú v neprítomnosti vhodného inhibítora skryté. Úlohou je vyhľadávanie týchto miest pomocou povrchu proteínu prístupného pre rozpúšťadlo (SASA). Ak sa otvorí nejaký cryptic pocket na povrchu enzýmu, dochádza ku zvýšeniu SASA, toto je docielené využívaním metódy metadynamiky, ktorá pri simuláciách núti proteín objavovať svoje nové konformácie pridávaním umelej energie do systému. Využitím týchto dvoch metód sa nám podarilo čiastočne otvoriť cryptic pocket na enzýme β -laktamázy, ktorý slúži ako náš vzorový proteín.



Vývoj nové metody pro konformační modelování peptidů

Štěpánka Lanková (B3)

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

Molekulární simulace jsou v dnešní době běžně používány v chemii a molekulární biologii. Avšak nadále jsou výpočetně náročné a pomalé, jelikož systém má tendenci se udržovat v energetickém minimu. Přirozeně máme tedy snahu tyto procesy urychlit. Tato práce se zaměřuje na testování metody „Flying Gaussian“, která je postavena na základech multiple walker metadynamiky. Systém je simulován v několika replikách, přičemž každá z nich startuje z jiné konformace. Pro každou z replik je v definovaných krocích počítán potenciál ve formě Gaussova kopce, který je na rozdíl od obyčejné metadynamiky pouze aktualizován, ne přidáván. Tím tedy dochází ke znevýhodňování podobných stavů, které jsou ve stejnou chvíli navštěvovány jinými replikami, což efektivně nutí systém prozkoumávat další minima. Další variantou této metody je bias exchange Flying Gaussian. To znamená, že mezi replikami v pravidelných intervalech dochází k pokusu o výměnu veličin popisujících strukturu, na které replika zrovna působí. Všechny zmíněné metody byly úspěšně testovány na molekule alanindipeptidu, kdy nejlepší výsledek jsme dostali za 10 ns simulaci bias exchange Flying Gaussian s výškou Gaussova kopce 4 kJ/mol. Dalším krokem této práce je pak testovat metody na systému větších peptidů, konkrétně chignolinu.

Vývoj datasetu pro hledání nízkomolekulárních ligandů proteinů pomocí strojové učení

Bc. Anna Petrová (M2)

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

Strojové učení je možné použít pro vývoj nových léčiv, např. pro rozpoznání skutečných komplexů protein-ligand od nesprávně navržených komplexů se zanedbatelnou afinitou. V této práci se zabýváme vývojem sady pro počítačový screening léčiv s využitím molekulárních simulací a strojového učení. Cílem je vytvořit kvalitní trénovací soubor, který obsahuje simulace komplexů proteinů s aktivními a neaktivními sloučeninami, jež by mohl být použit při testování potenciálních léčiv. Náš dataset vychází ze sady D-COID, kterou jsme upravili pro účel nadockování molekuly ligandu do proteinu. Dataset D-COID obsahuje mezi aktivními komplexy látky, pro něž je dostupná experimentálně vyřešená struktura. Tato struktura byla použita jako referenční struktura při počítání RMSD u dockovaných aktivních komplexů. Výsledky ukazují, že hodnoty RMSD jsou uspokojivé, přičemž u 38 % komplexů bylo dosaženo úspěšnosti s RMSD do 2 Å. Vytvořená trénovací sada bude dále využita pro strojové učení binárního klasifikátoru pro testování potenciálních léčiv.

Charakterizace NAFLD v potkaních modelech obezity

Bc. Hana Selicharová (M2)

Školitel: Ing. Jiří Fusek

Nealkoholické onemocnění jater (NAFLD) je v důsledku sedavého způsobu života a vysokokalorické stravy častou chorobou ve vyspělých zemích. NAFLD se projevuje hromaděním tukových kapének v játrech a v pokročilejším stadiu nemoci dochází k zánětu až fibróze, což může končit cirhózou či rozvojem jaterního karcinomu. NAFLD je považováno za jaterní projev metabolického syndromu. Vznik této nemoci je spojován s obezitou a insulinovou rezistencí, ale kompletní patogeneze není ještě plně objasněna. Pro studium vzniku NAFLD a případné testování léků je nutné mít vhodný zvířecí model, jehož nalezení a popsání je hlavním cílem této práce. Za tímto účelem byly testovány dva potkaní modely - Wistar Kyoto a Sprague Dawley. U obou modelů byla pomocí speciální vysokotukové diety (tzv. FFC) navozena obezita a následně byly měřeny různé metabolické parametry, markery zánětu a pomocí western blotů i insulinová signalizace. Součástí testování byla i histologická analýza jater. U obou modelů na FFC dietě došlo ke zvýšení tělesné hmotnosti a poškození insulinové signalizace. Nicméně u modelu Sprague Dawley byla v játrech i výrazná steatóza a navíc i zvýšená hladina zánětlivých markerů. Na základě našich měření můžeme říci, že Sprague Dawley potkani na FFC dietě jsou vhodným modelem ke studiu NAFLD.

Zavedení systému pro identifikaci potenciálních antibiotických adjuvans

Bc. Jan Špaček (M2)

Školitel: doc. Ing. Jan Lipov, Ph.D.

Celosvětovým problémem současné medicíny je narůstající rezistence bakterií na antibiotika. Protože konvenční léčiva postupně ztrácí svou účinnost a nové látky přibývají pomalu, je potřeba hledat alternativní cesty v boji s antibiotickou rezistencí. Jednou z možností je kombinovaná terapie s látkami, které samy o sobě nejsou pro bakterie toxické, ale specificky blokují mechanismus rezistence, tzv. adjuvans. V rámci této práce zavádím metodu pro testování potenciálních adjuvans s využitím knihovny transformovaných bakterií *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*, které produkují vždy jeden určitý enzym zodpovědný za rezistenci. U takto modifikovaných bakterií je nejprve změřena minimální inhibiční koncentrace (MIC) cílového antibiotika s využitím mikrodiluční metody. Následně jsou v přítomnosti $\frac{1}{2}$ MIC testovány potenciální adjuvans z chemicky pestré knihovny látek. Výhodou tohoto uspořádání je možnost enzym zodpovědný za rezistenci izolovat z buněk a detailněji studovat interakci inhibitoru s enzymem *in vitro*. Doposud se povedla rekombinantní produkce 8 enzymů. Všechny produkovány enzymy výrazně zvýšily rezistenci bakterií. Funkčnost systémů byla ověřena pomocí publikovaných pozitivních kontrol. V případě enzymu aacA-aphD došlo k identifikaci nového potenciálního adjuvans.

The use of bioinformatics tools in development of a new nomenclature for L-asparaginases

Max Štětina (B3)

Školitel: Ing. Eva Benešová, Ph.D.

The ability of L-asparaginases to cleave L-asparagine is critical to the treatment of some cancers, perhaps most notably acute lymphoblastic leukemia. L-Asparaginases are also utilized in the food industry as one of the main methods for lowering acrylamide content in various food products. As the recognition of the importance of this group of enzymes grew, so did the literature surrounding them. Thus, today there is an extensive number of sequenced and studied proteins with this ability. However, previous classifications of said proteins have become inaccurate, unable to keep up with the rapid discovery of new L-asparaginase sequences and characteristics, or inadequately encompass the large amount of varied L-asparaginase families. To set down the groundwork for a new classification reflecting the amount and diversity of L-asparaginases this thesis utilizes an array of bioinformatics tools allowing the identification, processing, and understanding of vast amounts of data brought to light by recent years of research, which would otherwise be impossible to thoroughly review entirely for the effective classification of this vital group of enzymes.

Aplikovaná mikrobiologie

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

doc. Ing. Jan Lipov, Ph.D. (předseda)

Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

Ing. Eva Benešová, Ph.D.

Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

[Bc. Veronika Bočková](#) (M2, Ing. Sabina Purkrtová, Ph.D.)

Detekce a studium genů rezistence k antibiotikům v genomu Salmonella enterica

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

Cell factories for producing HMOs

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

Antimikrobiální účinky nanomateriálů impregnovaných přírodními látkami

[Bc. Pavla Kočková](#) (M2, doc. Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.)

Stanovení mechanismu antibiotické rezistence u klinických izolátů Staphylococcus aureus

[Bc. Markéta Kutilová](#) (M2, doc. Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.)

Adjuvantní terapie pro léčbu stafylokokových infekcí rezistentních k antibiotikům

[Bc. Věra Lacinová](#) (M2, Ing. Simona Lencová, Ph.D.)

Tvorba biofilmu probiotických bakterií na polyamidových nanovlákněných materiálech

[Bc. Eva Musilová](#) (M2, Ing. Hana Sýkorová, Ph.D.)

Charakterizace sporulujících bakterií izolovaných z archivních fotografických materiálů

[Bc. Natálie Šebestová](#) (M2, Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.)

Tvorba biofilmu vybraných patogenních bakterií na nanomateriálech s odlišnou morfologií

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - APLIKOVANÁ MIKROBIOLOGIE

Schoeller
INSTRUMENTS

*Detekce a studium genů rezistence k antibiotikům v genomu *Salmonella enterica**

Bc. Veronika Bočková (M2)

Školitel: Ing. Sabina Purkrťová, Ph.D.

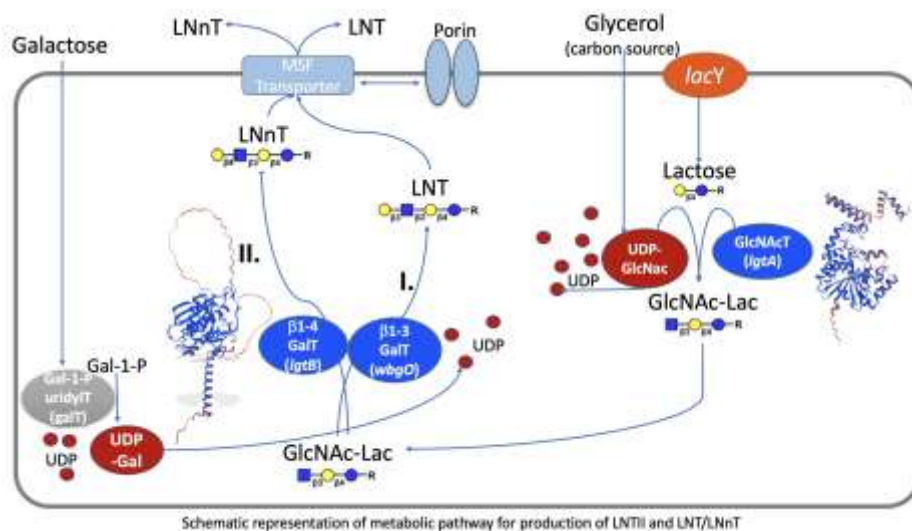
Bakterie druhu *Salmonella enterica* jsou původcem lidského alimentárního onemocnění salmonelóza. Zvyšující se výskyt genů rezistence k antibiotikům (ARG) v kmenech *S. enterica* se tak stává kritickým problémem pro veřejné zdraví. Cílem této práce je metodou nanopórového sekvenování zjistit výskyt ARG u izolátů *S. enterica* a dále nalézt korelaci mezi genotypem a fenotypovým projevem rezistence. Sekvence genomové DNA byla provedena na platformě MinION pro celkem čtyři izoláty sérotypů Typhimurium a Infantis. Detekce ARG v sestavených genomech byla provedena v programech Galaxy, ResFinder a RGI. U izolátů byly detekovány geny rezistence k aminoglykosidům, beta-laktamům a tetracyklinům, dále geny pro efluxní pumpy pro antibiotika a jednobodové mutace v genech *gyrA*, *gyrB*, *parC* a *nfsA*. Fenotypová rezistence k 29 antibiotikům (ze 16 různých skupin antibiotik) byla stanovena diskovou difúzní metodou. Korelace fenotypového projevu rezistence a genotypu byla jednoznačně potvrzena pro rezistenci k aminoglykosidům, beta-laktamům, nitrofuránům, fluorochinolónům a chloramfenikolům. Do budoucna bude tato detekce ARG provedena i pro další izoláty s cílem zjistit změny výskytu ARG v průběhu času a bude též rozšířeno spektrum testovaných antibiotik pro dosažení co nejvalidnějších výsledků korelace.

Cell factories for producing HMOs

Bc. Eliška Filipová (M2)

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

Human milk oligosaccharides (HMOs) are complex compounds responsible for healthy neonatal development of infants with a positive impact on the gastrointestinal microbiome and immune system.¹ Though HMOs are *in vitro* prepared by enzymatic synthesis, this pathway is often complicated by the high price of sugar nucleotides, the low substrate specificity and stability of the enzymes. Production of HMOs *via* genetically-engineered microbial cell factories is a more promising approach.² It enables large-scale production in bioreactors with high conversion rates and selectivity. Construction of a functional cell factory comprises establishing new metabolic pathways.³ The present work shows a[PL1] large-scale production of first intermediate lacto-*N*-triose (LNTII) in 2L bioreactor with 60% conversion (10 g yield) and outlines its further possible conversion into lacto-*N*-neotetraose (LNnT) and lacto-*N*-tetraose (LNT), the most abundant neutral oligosaccharides in milk, using engineered *Escherichia coli* cell factory. Complementary to the upstream process of production, this work also describes downstream process of isolation and purification of LNTII.



Antimikrobiální účinky nanomateriálů impregnovaných přírodními látkami

Bc. Kateřina Kodešová (M2)

Školitel: Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

Dle WHO je mikrobiologická kontaminace potravin globálním problémem a v boji proti ní hrají velkou roli obalové materiály. V posledních letech se vyvíjí stále více typů různých nanomateriálů, pomocí nichž lze připravit aktivní obaly obsahující bioaktivní molekuly, a tím prodloužit trvanlivost potravin. Cílem této práce je vybrat vhodné přírodní látky s antimikrobiálními vlastnostmi a vyvinout postup pro přípravu nanomateriálů impregnovaných těmito látkami. Morfologie nanomateriálů má zásadní vliv na jejich antimikrobiální vlastnosti, proto bylo pracováno s nanomateriály s různou morfologií s hypotézou, že mezi nimi bude signifikantní rozdíl. Z antimikrobiálních látek byly testovány extrakt ze zeleného čaje, kyselina citronová, kurkumin a astaxanthin. Podařilo se sestavit účinný postup pro impregnaci nanomateriálů a stanovit synergický účinek nanomateriálů a antimikrobiální látky. Kombinace nanomateriálu PCL 45 (hladký i modifikovaný) a extraktu ze zeleného čaje vykazovala nejlepší antibakteriální účinek, ale pouze na testované G⁺ bakterie, nikoli na G⁻ bakterie. Proto je plánováno rozšířit testování o další látky, např. alicin, extrakty z cibule či česneku. Nejúčinnější kombinace pak bude použita jako obal pro kuřecího masa a budou sledovány změny mikrobiomu tohoto masa.

*Stanovení mechanismu antibiotické rezistence u klinických izolátů *Staphylococcus aureus**

Bc. Pavla Kočková (M2)

Školitel: doc. Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.

Bakterie *Staphylococcus aureus* se řadí mezi multirezistentní patogeny, což znamená, že nese rezistenci alespoň k jednomu antibiotiku (ATB) ze tří a více tříd ATB. Ponechávají se sice tzv. ATB poslední volby, pro která se sahá až v krajních případech, ale ani u těchto léků není zaručeno, že k vývoji rezistence časem nedojde. Proto je velmi žádoucí pochopit jednotlivé mechanismy rezistence a identifikovat geny s nimi spojené, neboť rezistence k jednomu ATB je často zapříčiněna více mechanismy. V praktické části pracujeme s 5 multirezistentními klinickými izoláty *S. aureus*. Na základě známých fenotypů rezistence jsme navrhly 16 sad oligonukleotidů pro identifikaci možných genů rezistence. Jejich samotná detekce v izolované DNA probíhala pomocí metody polymerázové řetězové reakce s detekcí v reálném čase. Ve všech 5 kmenech se nám podařilo identifikovat genotyp rezistence objasňující jeho fenotypový projev. V druhé části se zaměříme na izolaci RNA, pomocí níž se budeme snažit kvantifikovat transkripci genů kódujících transmembránové efluxní pumpy. U nich pouhé stanovení jejich přítomnosti nestačí, jelikož rezistence je často způsobena jejich nadměrnou expresí. Míra transkripce těchto pump u rezistentních kmenů bude porovnávána s mírou transkripceu senzitivního kmene *S. aureus*.

Adjuvantní terapie pro léčbu stafylokokových infekcí rezistentních k antibiotikům

Bc. Markéta Kutilová (M2)

Školitel: doc. Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.

Kvůli vzrůstající multirezistenci unikají bakterie účinku běžně používaných antibiotik a ohrožují životy lidí po celém světě. Dlouho se věřilo, že řešením bude vývoj nových antibiotik, ale v posledních letech bylo schváleno naprosté minimum nových antimikrobiálních látek. Jedním z alternativních řešení je využití adjuvantní terapie. Ta spočívá v současném podání antibiotika s adjuvans neantibiotické povahy, které inhibuje mechanismus rezistence k danému antibiotiku. Cílem této práce je nalezení nových antimikrobiálních látek a látek modulujících rezistentní fenotyp bakterie. Veškeré experimenty jsem prováděla s multirezistentním klinickým izolátem meticilin-rezistentní bakterie *Staphylococcus aureus* (MRSA). Ve své práci jsem určovala minimální inhibiční koncentraci (MIC) adjuvans mikrodiluční metodou dle ISO standardu 20776-1. A dále synergistické působení adjuvans s šesti různými antibiotiky (oxacilin, chloramfenikol, erytromycin, gentamicin, ciprofloxacin a tetracyklin). Z celkového množství 148 testovaných látek, bylo prozatím nalezeno 9 látek inhibujících viabilitu MRSA a dále 25 látek, které zvyšovaly účinnost antibiotik. Následující experimenty budou zaměřeny na toxicitu těchto látek vůči lidským buněčným liniím, aby mohla být posouzena jejich klinická aplikace.

Tvorba biofilmu probiotických bakterií na polyamidových nanovláknenných materiálech

Bc. Věra Lacinová (M2)

Školitel: Ing. Simona Lencová, Ph.D.

Probiotické bakterie jsou živé mikroorganismy přispívající ke zdraví svého hostitele. Vzhledem k jich náročnější kultivaci a citlivosti k environmentálním podmínkám jsou vyvíjeny nové technologie umožňující produkci velkého počtu buněk a zvyšující jejich stabilitu během výroby i skladování. Slibnou možností je využití nanovláknenných materiálů jako nosných struktur k buněčné adhezi, proliferaci a tvorbě biofilmu, jelikož mimikují extracelulární matrix. K sledování tvorby biofilmu *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus sakei* a *Bifidobacterium breve* byly v této práci použity polyamidové nanomateriály (PA) lišící se plošnou hustotou: PA 5 g/m², PA 10 g/m² a PA 26 g/m². Stanovením KTJ/cm² a vizualizací skenovací elektronovou mikroskopií byla porovnána (i) tvorba biofilmu s a bez přítomnosti PA, (ii) rozdíly v tvorbě biofilmu mezi testovanými bakteriemi a (iii) vliv plošné hustoty PA na tvorbu biofilmu. Biofilm se tvořil na všech testovaných PA obdobně jako na kontrolním materiálu (polystyren) s výjimkou PA 10 g/m² a *L. sakei*. Tvorba biofilmu na PA se nelišila mezi testovanými kmeny ani nebyla ovlivněna plošnou hustotou PA. Výsledky naznačují, že PA jsou vhodnými nosiči biofilmů probiotických bakterií. V navazující práci bude testována odolnost biofilmu *L. rhamnosus* během skladování.

Charakterizace sporulujících bakterií izolovaných z archivních fotografických materiálů

Bc. Eva Musilová (M2)

Školitel: Ing. Hana Sýkorová, Ph.D.

Muzea, knihovny, galerie, archivy a další instituce mají klíčovou roli při uchovávání kulturního dědictví lidstva, které zahrnuje různé formy materiálů, jako jsou obrazy, knihy, pergameny, fotografie a další. Uchovávání těchto materiálů po delší časové období však není jednoduchým úkolem a vyžaduje dodržování vhodných skladovacích podmínek. Tyto materiály jsou běžně tvořené organickými látkami, které při nedodržení správných skladovacích podmínek mohou sloužit jako zdroj živin pro mikroorganismy. S postupem času se tak mohou na daném materiálu objevovat prvky mikrobiální aktivity, které mohou být až fatální. Většina studií, které se zabývají tématem biodegradace se upíná k plísním, na archivních materiálech je ale možné detekovat i bakterie, obvykle sporulující rody. Cílem této práce je tak provést charakterizaci sporulujících bakterií, které byly izolovány z archivních fotografií, se zaměřením na jejich biodegradační schopnosti a produkci sekundárních metabolitů, konkrétně antifungálních látek.

Tvorba biofilmu vybraných patogenních bakterií na nanomateriálech s odlišnou morfologií

Bc. Natálie Šebestová (M2)

Školitel: Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

Jedním ze slibných přístupů v boji proti multirezistentním patogenním bakteriím a jimi způsobeným infekcím je využití nanovláknenných materiálů. Nanomateriály mají jedinečné elektrické, mechanické a tepelné vlastnosti, což je činí velice prospěšnými v mnoha (nejen) medicínských odvětvích. Zejména jejich různorodá morfologie by mohla mít vliv na snížení schopnosti tvorby bakteriálního biofilmu. Proto jsme se v této práci zaměřili na vybrané patogenní bakterie *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* a *Salmonella enterica* a desítkovým ředěním s následnou kultivací jsme posuzovali tvorbu jednodruhového biofilmu na polyesterových (polykaprolaktonových, PCL) nanomateriálech o různém průměru vláken s hladkými nebo strukturovanými povrchy. Následně jsme provedli vícenásobné porovnání získaných dat pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA). Biofilmy byly rovněž porovnány pomocí skenovací elektronové mikroskopie. Prokázali jsme, že na využitých PCL nanomateriálech došlo k významnému snížení tvorby biofilmu pouze u bakterie *E. coli*. Testované PCL nanomateriály tedy nepříznivě ovlivnily tvorbu biofilmu u této gramnegativní bakterie, mají tak potenciál pomoci v boji proti tvorbě jejího biofilmu.

Biomedicínské aplikace I

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

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

Ing. Tomáš Podzimek, Ph.D.

PharmDr. Jindřiška Angelini, Ph.D.

Ing. Jiří Novotný

PROGRAM

09:00 **zahájení**

[Bc. Kateřina Keltnerová](#) (M2, Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.)

Stanovení kombinatoriálního účinku kolchicinu s inhibitory P-glykoproteinů v buněčných liniích karcinomu prsu

[Bc. Martina Novotná](#) (M2, Ing. Eva Jablonská, Ph.D.)

Použití 3D buněčných kultur pro testování cytokompatibility biomateriálů na bázi zinku

[Bc. Tereza Veverková](#) (M2, doc. Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.)

Příprava hematoencefalické bariéry in vitro pro predikci přestupu léčiv

[Bc. Kristína Zajcegová](#) (M2, Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.)

Antiproliferační aktivita a vnitrobunková lokalizace inhibitorů SERCA v modelech rakoviny plic a rakoviny prsníka

[Bc. Markéta Čechová](#) (M2, doc. Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.)

Modulace aminoglykosidové rezistence steroidními deriváty u klinických izolátů

[Bc. Aneta Šiklová](#) (M2, prof. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.)

Příprava indukovaných pluripotentních kmenových buněk u pacientů s Leberovou hereditární neuropatií optiku

[Bc Gabriela Špačková](#) (M2, doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.)

In vitro studium oxidačního stresu vznikajícího během fototerapie závažné novorozenecké žloutenky

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - BIOMEDICÍNSKÉ APLIKACE I



Stanovení kombinatoriálního účinku kolchicinu s inhibitory P-glykoproteinů v buněčných liniích karcinomu prsu

Bc. Kateřina Keltnerová (M2)

Školitel: Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.

Mitotické jedy jsou látky studované především pro své cytostatické účinky na lidské nádorové buňky. Významný zástupce mitotických jedů je kolchicin, který se váže na mikrotubuly a brání tím jejich polymeraci, čímž způsobuje zastavení buněčného cyklu ve fázi mitózy a následnou buněčnou smrt. Kromě toho je kolchicin také substrátem P-glykoproteinů, transmembránových efluxních pump, které snižují jeho biologickou dostupnost. Zvýšená produkce těchto pump tak může být jednou z příčin rezistence nádorových buněk k aplikované látce. Předpokládáme, že při kombinaci kolchicinu s vhodnými inhibitory P-glykoproteinů může být jeho terapeutický účinek zvýšen. Cílem této práce bylo stanovit cytotoxicitu vybraných inhibitorů P-glykoproteinů kanabidiolu, kyseliny betulinové a tariquidarů v kombinaci s kolchicinem v prsních nádorových buňkách a jejich rezistentních variantách. Cytotoxicita byla stanovena pomocí WST-1 testu buněčné viability po 72h ošetření buněčných linií karcinomu prsu MCF-7 a UHF-001 studovanými látkami. Ve zvolených podmínkách nebyly však kombinace látek synergické. Vyšší synergismus kombinací těchto látek předpokládáme v připravovaných buněčných liniích rezistentních ke kolchicinu, ve kterých bude kromě cytotoxicity stanovena také produkce P-glykoproteinů.

Použití 3D buněčných kultur pro testování cytokompatibility biomateriálů na bázi zinku

Bc. Martina Novotná (M2)

Školitel: Ing. Eva Jablonská, Ph.D.

Tato práce se zabývá zdokonalením testování cytokompatibility degradovatelných zinkových biomateriálů *in vitro*. Cílem bylo zhodnotit efektivitu 3D buněčných kultur v testování cytotoxicity těchto materiálů, jelikož se jedná o jedno z možných řešení špatné korelace výsledků *in vitro* a *in vivo*. Chtěli jsme potvrdit hypotézu, že 3D buněčné kultury lépe napodobují *in vivo* prostředí oproti tradičním 2D kulturám. Dále jsme chtěli nastavit podmínky pro budoucí testování cytotoxicity biomateriálů v 3D uspořádání. Pro tvorbu 3D modelu pro testování cytotoxicity jsme použili fetální lidské osteoblasty (hFOB 1.19). To zahrnovalo stanovení vhodné buněčné koncentrace pro tvorbu sféroidu, porovnání 2D a 3D kultur a testování za různých kultivačních podmínek. Příprava sféroidů byla zajištěna použitím agarosou pokrytých destiček. Pro analýzu cytotoxicity zinku jsme využili modelových roztoků $ZnCl_2$ a provedli vyhodnocení resazurinovým testem. Po nastavení vhodných kultivačních podmínek jsme kultivovali ideální sféroidy a potvrdili hypotézu o nižší cytotoxicitě zinku vůči 3D kulturám ve srovnání s 2D kulturami. Toto 3D uspořádání bude následně použito pro testování výluhů degradovatelných biomateriálů na bázi zinku.

Příprava hematoencefalické bariéry in vitro pro predikci přestupu léčiv

Bc. Tereza Veverková (M2)

Školitel: doc. Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.

Hematoencefalická bariéra (HEB) odděluje centrální nervový systém (CNS) od oběhového systému. Je tvořena zejména vrstvou specializovaných endoteliálních buněk, astrocyty a pericyty. HEB chrání CNS před toxickými vlivy a zajišťuje kontrolovaný přestup látek z kapilár do vnitřního prostředí CNS. Pro farmakologické ovlivnění CNS musí dané léčivo procházet přes HEB. Možnosti současného testování prostupu jsou ovšem značně omezené. V naší laboratoři bylo připraveno několik modelů lidských HEB tvořených endotelem, astrocyty i pericyty. Pomocí testů permeabilit a měření transmembránového odporu bylo vybráno nejlepší buněčné uspořádání pro kultivaci HEB. Na modelu byl testován přestup 21 antiepileptik užívaných v ČR a 20 steroidů, u kterých se předpokládá potenciální terapeutický účinek u farmakorezistentní epilepsie. Jeden z předpokládaných mechanismů farmakorezistence u farmakorezistentní epilepsie je endoteliální nadprodukce efluxních pump se substrátovou specifitou pro antiepileptika. Projekt proto bude pokračovat selekcí endotelových linií rezistentních na vybraná antiepileptika a tvorbou modelů HEB s těmito rezistentními liniemi. Na těchto modelech pak budou testovány prostupy neurosteroidů, které procházely přes modely HEB s původními endoteliemi.

Antiproliferačná aktivita a vnútrobunková lokalizácia inhibítorov SERCA v modeloch rakoviny pľúc a rakoviny prsníka

Bc. Kristína Zajcegová (M2)

Školiteľ: Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.

Trilobolid (Tb), seskviterpénový laktón izolovaný z timoja trojlaločného (*Laser trilobum*), je dnes intenzívne študovanou látkou pre jeho potenciál v liečbe rakoviny. Jeho účinok spočíva v inhibícii sarko-/endoplazmatickej retikulárnej Ca^{2+} -ATPázy, membránového enzýmu, ktorého inhibícia vedie až k apoptóze buniek. Predmetom tohto výskumu sú tri konjugáty Tb s fluoroformi s odlišnou štruktúrou a emisiou fluorescence. Fluorescenčnou mikroskopiou bola overovaná lokalizácia derivátov v endoplazmatickom retikule buniek rakoviny pľúc a prsníka. Na základe vysokej účinnosti derivátov Tb v monovrstve nádorových buniek sa pristúpilo k hodnoteniu ich účinku v komplexnejšom modeli vo forme sféroidov buniek karcinómu pľúc a karcinómu prsníka. Bola hodnotená predovšetkým cytotoxicita látok a ich vplyv na zmenu veľkosti a integrity sféroidov. Deriváty znižovali viabilitu buniek sféroidov a indukovali prerušenie medzibunkových interakcií, čo sa prejavilo rozvoľnením sféroidov. Doterajšie výsledky poukazujú na potenciál študovaných derivátov Tb zmenšovať 3D modely nádorov, preto budú ďalej podrobnejšie skúmané. Výsledky tejto práce by mohli poslúžiť ako podklad pre vývoj nových teranostík pre liečbu karcinómu pľúc a prsníka, a zobrazovanie nádorových ochorení.

Modulace aminoglykosidové rezistence steroidními deriváty u klinických izolátů

Bc. Markéta Čechová (M2)

Školitel: doc. Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.

Modulace aminoglykosidové rezistence steroidními deriváty u klinických izolátů Antibiotická rezistence je celosvětový problém. Vývoj nových antibiotik trvá dlouho, a ne všechna projdou klinickým testováním až do praxe. Jednou z používaných skupin antibiotik jsou aminoglykosidy. Jsou to širokospektrá baktericidní antibiotika, která z důvodů rozvoje rezistence, zejména u gramnegativních bakterií, opět získávají svou pozici v antibiotické léčbě. Cílem práce je zjistit, zda je možné pomocí adjuvanční terapie, tedy kombinací steroidních derivátů s antibiotiky, obnovit citlivost rezistentních kmenů bakterií k testovaným aminoglykosidům. Pro tento účel byla vytvořena sbírka klinických izolátů bakterií (gramnegativních i grampozitivních) rezistentních k aminoglykosidům. Testování probíhá v mikrotitrační destičce za využití mikrodiluční metody, jejímž výsledkem je určení hodnoty minimální inhibiční koncentrace jednotlivých steroidních derivátů. Nejprve je stanovena antimikrobiální aktivita steroidů vůči testovaným kmenům a následně jejich synergistické působení s gentamycinem, tobramycinem a amikacinem. Z dosavadních výsledků se zdá, že steroidní deriváty jsou slibnými adjuvans aminoglykosidové terapie.

Příprava indukovaných pluripotentních kmenových buněk u pacientů s Leberovou hereditární neuropatií optiku

Bc. Aneta Šiklová (M2)

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

Leberova hereditární neuropatie optiku (LHON) je dědičné mitochondriální onemocnění postihující retinální gangliové buňky (RGC), při kterém dochází k nebolestivé bilaterální ztrátě zraku v adolescenci či rané dospělosti. U většiny pacientů je LHON způsoben bodovými mutacemi v mitochondriální DNA a to v genech kódujících strukturní podjednotky komplexu I (NADH:ubichinon-reduktasa, CI), prvního enzymu systému oxidativní fosforylace (OXPHOS). V roce 2021 byly jako příčina LHON identifikovány mutace v genu *DNAJC30*, který je nezbytný pro opravné procesy matrixové části CI. Všechny tyto mutace, které vykazují neúplnou penetranci, mají přímý dopad na správnou funkci CI, čímž dochází ke snížení účinnosti OXPHOS a tedy poklesu produkce ATP. Protože k manifestaci onemocnění dochází na úrovni RGC, nebyl mechanismus nástupu onemocnění dosud řádně prozkoumán. Proto jsme přistoupili k přípravě buněčného modelu, který by byl vhodný pro objasnění molekulární podstaty rozvoje onemocnění. Cílem je příprava indukovaných pluripotentních buněk (iPSC) z periferních krevních mononukleárních buněk, získaných od pacientů s LHON. iPSC budou dále diferenciovány na neurální progenitorové buňky, na kterých bude charakterizován mitochondriální energetický metabolismus. Podporováno grantem: AZV NU22-07-00614

In vitro studium oxidačního stresu vznikajícího během fototerapie závažné novorozenecké žloutenky

Bc Gabriela Špačková (M2)

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

Závažnou novorozeneckou žloutenku zapříčiňuje především zvýšená degradace erytrocytů a nezralost jaterních transportérů dítěte. Léčebným opatřením je fototerapie (FT) modrozeleným světlem ($\lambda = 400 - 520 \text{ nm}$). Dochází k přeměně struktury nepolárního bilirubinu (BR) na polárnější, snadno vylučitelné fotoprodukty (FP). Obecně je FT považována za bezpečnou léčbu, ale nedávné studie naznačují, že může být doprovázena i řadou negativních vedlejších účinků (např. vyšší incidencí alergií, astmatu a zvýšeným rizikem rozvoje rakoviny). To mohou hypoteticky způsobovat vznikající FP nebo související oxidační stres. Tato práce se zabývá studiem oxidačního stresu vznikajícího při FT v *in vitro* prostředí. MTT testem byl zkoumán vliv FT na viabilitu buněk hepatoblastomu (HepG2). Pomocí analýzy Western blot byl kvantifikován protein p38, který se při nadměrné tvorbě oxidačního stresu fosforyluje. Fluorescenční barvou MitoSOX byla změřena produkce mitochondriálního superoxidu v živých buňkách. Se vzrůstající koncentrací bilirubinu a následnou FT dochází k signifikantnímu poklesu viability buněk a k vyšší produkci superoxidu. Fosfo-p38 byla nesignifikantně zvýšená. Výsledky naznačují, že FT modrozeleným světlem zvyšuje intracelulární produkci reaktivních forem kyslíku, které jsou pro buňku toxické.

Biomedicínské aplikace II

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

doc. Dr. Ing. Zuzana Novotná (předseda)

doc. Ing. Igor Hochel

Ing. Zita Holík Purkrťová, Ph.D.

Ing. Nikola Vrzáčková, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

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

Plasmonic biosensor for detection of cancer biomarkers in blood

[Bc. Anna Marešová](#) (M2, Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.)

Multimodální konjugáty paklitaxelu pro zobrazování a terapii karcinomu vaječníků a děložního čípku

[Bc. Zdeněk Míchal](#) (M2, Ing. Eva Jablonská, Ph.D.)

Testování flavonolignanů in vitro - interakce s estrogenovým a androgenovým receptorem

[Bc. Miriam Pitoňáková](#) (M2, Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.)

Indukcia imunogénnej bunkovej smrti vybranými kardioglykozidmi v bunkách osteosarkómu

[Bc. Eliška Podoláková](#) (M2, prof. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.)

Biomarkery morbidity experimentální schistosomózy

[Bc. Anežka Teissingová](#) (M2, Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.)

Synergický protinádorový účinek kolchicinu a modulátorů autofagie na plicní nádorové buňky

[Petra Třešňáková](#) (M2, doc. Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.)

Potenciál derivátů hydrochinolonů v léčbě kožních onemocnění

[Bc. Kateřina Veselá](#) (M2, doc. Ing. Barbora Holubová, Ph.D.)

Imunochemická detekce N,N-dimethyltryptaminu

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - BIOMEDICÍNSKÉ APLIKACE II



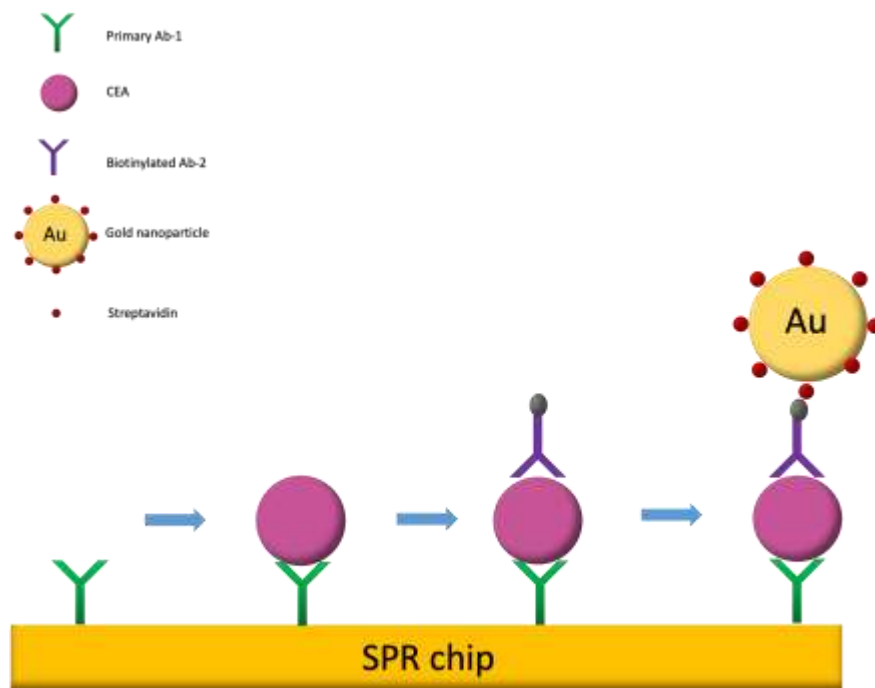
Bene Meat
Technologies

Plasmonic biosensor for detection of cancer biomarkers in blood

Bc. Terézia Horníková (M2)

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

Biosensors are used daily in many fields, such as food control, healthcare, environmental monitoring, security, and forensics. A wide range of biosensors are used, like enzyme-based, tissue-based, immunosensors, DNA biosensors, etc. In this work, we focus on optical affinity biosensors based on surface plasmon resonance (SPR) and improvements in their sensing performance for the detection of cancer biomarkers in blood samples. An SPR affinity biosensor is a device that measures changes in refractive index in the close vicinity of the sensor surface caused by the interaction between a receptor attached to the sensor surface and an analyte in a solution. For sensitive detection of small concentrations of molecules, advanced detection formats are applied, such as sandwich detection with signal enhancement via functionalized gold nanoparticles (AuNPs) (Figure 1). Here, we aim to advance the standard sandwich format to achieve a better limit of detection (LOD). As a model system, we exploit the carcinoembryonic antigen (CEA), a well-known biomarker of colorectal cancer.



Multimodální konjugáty paklitaxelu pro zobrazování a terapii karcinomu vaječníků a děložního čípku

Bc. Anna Marešová (M2)

Školitel: Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.

Paklitaxel je tetracyklický diterpenoid využívaný v léčbě řady onkologických onemocnění, jeho širší využití v klinické praxi je však limitováno nízkou selektivitou pro nádorové buňky. V této práci byly studovány 4 nové deriváty paklitaxelu konjugované s difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacenem (BODIPY) a jodo-BODIPY vázanými přes C-7 a C-2', které by mohly najít uplatnění při zobrazování nádorů a fotodynamické terapii. Nejprve byla stanovena cyto- a fototoxicita látek v lidských nádorových buňkách z děložního čípku (HeLa), vaječníků (SK-OV-3) a kosti (U-2 OS) a v nenádorových plicních fibroblastech (MRC-5). Zjistili jsme, že cytotoxicita všech látek po 24 i 72 h byla nižší než pro paklitaxel a přímo souvisela s polohou vazby BODIPY/jodo-BODIPY, toxičtější byly látky vázané přes C-2'. V případě obou konjugátů s jodo-BODIPY došlo po fotoaktivaci ke zvýšení jejich toxicity v buňkách HeLa a MRC-5. V buňkách SK-OV-3 byl fototoxičtější konjugát vázaný přes C-7. Dále bylo zjištěno, že se konjugáty účinně akumuluji v buňkách HeLa při 1 μ M koncentraci již po 10 min., a že stejně jako paklitaxel stabilizují mikrotubuly buněk U-2 OS a zastavují buněčný cyklus buněk HeLa ve fázi G2/M (24 h). Vzhledem k prokázaným antiproliferačním účinkům budou tyto látky dále studovány i ve 3D modelech buněk.

Testování flavonolignanů in vitro - interakce s estrogenovým a androgenovým receptorem

Bc. Zdeněk Míchal (M2)

Školitel: Ing. Eva Jablonská, Ph.D.

Schopnost exogenních látek vázat se na hormonální receptory může vést k mnoha negativním účinkům na živé organismy – od oslabení imunitního systému přes podporu proliferace rakovinných buněk po narušení schopnosti reprodukce. Flavonolignany, látky nacházejících se například v doplňcích stravy pro podporu regenerace jater, mají schopnost se na receptory vázat, avšak nebylo dosud testováno jejich působení. V naší práci byla ověřována schopnost vybraných synteticky připravených flavonolignanů a jejich derivátů vázat na estrogenové (ER) a androgenové receptory (AR) a působit jako agonista. Dále byl zaveden obdobný test pro ověření antagonistického působení. V současnosti je zaváděn také test pro vazbu na glukokortikoidní receptor (GR). Tyto reportérové testy *in vitro* byly provedeny s použitím lidských buněčných linií HeLa9903 s vloženým ER a MDA-kb2 s vloženým AR a GR. Bylo vyhodnoceno, že žádná z testovaných látek, mimo kvercetin, neinteragovala jako agonista ani s jedním ze zmíněných receptorů. Flavonol kvercetin agonisticky interagoval s ER, což je v souladu s literaturou. Dále budou pro vybrané flavonolignany ověřeny antagonistické schopnosti. Také budou otestovány jejich metabolity získané metabolickou aktivací *in vitro* pomocí krysího jaterního homogenátu.

Indukcia imunogénnej bunkovej smrti vybranými kardioglykozidmi v bunkách osteosarkómu

Bc. Miriam Pitoňaková (M2)

Školiteľ: Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.

Hlavnou nevýhodou mnohých rakovinových liečebných metód je ich neselektívnosť. Jedným z možných riešení je naučiť imunitný systém aktívne rozpoznávať a bojovať s nádorovými bunkami. Tento prístup, imunoterapia, využíva imunogénnu bunkovú smrť (ICD) na aktiváciu imunitného systému. Indukciou ICD sa uvoľňujú signálne molekuly, ako proteín s vysokou mobilitou skupiny 1 (HMGB1), kalretikulín a adenozíntrifosfát (ATP), ktoré stimulujú imunitný systém. Limitáciou je, že nie všetky látky majú schopnosť indukovať ICD, no kardioglykozidy sú výnimkou. Cieľom tejto práce je zistiť, či doposiaľ nepreskúmaný deglukohyrkanozid môže indukovať ICD a slúžiť ako potenciálny liek proti rakovine. V našich experimentoch sme sledovali signálne molekuly a ich typické správanie v procese ICD, ako vylučovanie HMGB1 z buniek osteosarkómu (U-2 OS), pričom sme zaznamenali pokles HMGB1 v bunkách a zároveň jeho nárast v médiu. V ďalších experimentoch budeme analyzovať úbytok ATP v bunkách U-2 OS a jeho nárast v médiu prostredníctvom fluorescenčnej mikroskopie, fluorimetrie a chemiluminiscencie, a študovať transport kalretikulínu na vonkajšiu stranu cytoplazmatickej membrány pomocou prietokovej cytometrie. V doterajších experimentoch sme doposiaľ pozorovali potvrdenie teoretických predpokladov.

Biomarkery morbidity experimentální schistosomózy

Bc. Eliška Podoláková (M2)

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

Schistozóma, česky krevnička, patří mezi klinicky nejvýznamnější zástupce třídy motolic. Krevničky jsou původci závažného onemocnění zvané schistosomóza. Endemické oblasti toho onemocnění sčítají celkem 78 států světa, ve kterých žije přibližně 700 milionů lidí. Převážná většina rizikových států spadá do zemí s nízkou ekonomickou a životní úrovní. Podle WHO v roce 2021 vyžadovalo preventivní léčbu 251,4 milionů lidí, z nichž pouze 75,3 milionů lidem bylo podáno dosud jediné komerčně dostupné antiparazitikum prazikvantel. Současný výzkum schistosomózy se zaměřuje na nové přístupy v prevenci obyvatel v ohrožených oblastech, snížení nákladů na diagnostiku, zlepšení její dostupnosti, ale i na vývoj nových léčiv. Právě nové léčivo je vysoce žádoucí, a to především kvůli nebezpečí vzniku rezistence na prazikvantel, ale i řadě dalším problémům, které skrývá lék „jediné volby“. Nedílnou součástí vývoje nových léčiv *in vivo* jsou testy účinnosti experimentálních infekcí na myších modelech. Cílem diplomové práce je navrhnout biomarkery vhodné pro hodnocení průběhu experimentální schistosomózy a dále připravit porovnávací podmínky pro budoucí výzkum inhibitorů schistosomálních proteáz, jakožto potenciální léčiva.

Synergický protinádorový účinek kolchicinu a modulátorů autofagie na plicní nádorové buňky

Bc. Anežka Teissingová (M2)

Školitel: Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.

Kolchicin je účinný mitotický jed inhibující proliferaci nádorových buněk. Jeho využití v léčbě rakoviny je však omezeno vysokou systémovou cytotoxicitou a častým rozvojem buněčné rezistence. Možným mechanismem rezistence nádorových buněk je vyvolání cytoprotektivní autofagie, pomocí níž jsou odstraňovány poškozené buněčné komponenty. V této práci byla studována možnost zvýšení terapeutického účinku kolchicinu v buňkách adenokarcinomu plic (A549) modulací buněčné autofagie. Nejprve byla stanovena toxicita vybraných modulátorů autofagie a kolchicinu v buňkách A549 a v nenádorových plicních fibroblastech (MRC-5). Dále byla stanovena toxicita kombinací modulátorů autofagie s netoxickými koncentracemi kolchicinu po 24 a 72h ošetření buněk A549. Bylo zjištěno, že kolchicin v kombinaci s inhibitory autofagie chlorochinem a bafilomycinem A1 a induktory autofagie fluvastatinem, rapamycinem a chinakrinem působí synergicky. Tyto kombinace látek by tak mohly být vhodnější pro terapii nádorových onemocnění než samotný kolchicin a budou proto dále zkoumány, mimo jiné i na buňkách A549 rezistentních ke kolchicinu. Modulace autofagie studovanými látkami a jejich synergických kombinací bude dále studována fluorescenční mikroskopií a specifickým barvením autofagosomů monodansylkadaverinem.

Potenciál derivátů hydrochinolonů v léčbě kožních onemocnění

Petra Třešňáková (M2)

Školitel: doc. Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.

Chinolony a zejména pak jejich fluorované deriváty se pro své baktericidní účinky využívají v klinické praxi jako širokospektrá antibiotika. Další klinické využití je předmětem řady studií. Tato práce se zabývá možnými topickými aplikacemi devíti různých hydrochinolonů. V rámci práce byly zkoumány jejich cytotoxické účinky na lidské buněčné linie keratinocytů, fibroblastů a nádorových melanocytů a jejich antimikrobiální aktivita vůči bakteriím *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* a kvasince *Candida albicans* jakožto oportunním patogenům. Účinky na melanocytech byly zkoumány nejen na 2D buněčné kultuře, ale i na 3D sféroidech, pro jejichž přípravu byly použity tři metody, a to metoda visící kapky, metoda pokrytí jamek agarosovým gelem a příprava v nízko-adhezivních destičkách. Antimikrobiální aktivita byla detekována pouze vůči bakteriím, kvasinka senzitivní nebyla. U dvou testovaných derivátů, které měly do struktury zavedenou nitroskupinu, byl pozorován selektivní cytotoxický účinek vůči nádorové linii. Z toho důvodu byla u daných derivátů sledována aktivita i na sféroidech, kde došlo k zastavení růstu a částečnému rozrušení struktury. Protinádorová aktivita nitrohydrochinolonů bude předmětem dalšího výzkumu.

Imunochemická detekce N,N-dimethyltryptaminu

Bc. Kateřina Veselá (M2)

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

N,N-dimethyltryptamin (DMT) je v přírodě se vyskytující halucinogenní látka. Nejznámější je jako primární psychoaktivní látka rituálního nápoje ayahuascy, vývaru z amazonské liany *Banisteriopsis caapi*. Česká republika zákonem ustanovila DMT jako návykovou látku, pro které platí značná omezení zacházení, dovozu, vývozu a transportu. K minimalizaci bezpečnostních rizik spojených s konzumací návykových látek je nutná dostupnost metod detekce, které tyto látky budou schopné odhalit. Cílem této práce je vyvinout ELISA metodu pro detekci DMT. První část práce se zabývá výběrem vhodných imunoreagencií pro sestavení metody v nepřímém kompetitivním uspořádání – konjugátu DMT s hovězím sérovým albuminem a příslušné primární protilátky. Další část práce se zabývá výběrem vhodných podmínek metody. Dosud byly vybrány koncentrace konjugátu a primární protilátky a složení pufrů pro ředění protilátek. Tyto podmínky poskytly detekční limit DMT $0,01 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ a bude snahou ho nadále snižovat (např. výběrem koncentrace sekundární protilátky, teplotou a dobou inkubace). Metoda následně bude použita ke stanovení DMT ve vzorcích – uměle kontaminovaných, popřípadě i reálných.

Enzymologie

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

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

Ing. Jiří Šantrůček, Ph.D.

Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

Ing. Jan Sácký, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

[Bc. Barbora Bajerová](#) (M1, Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.)

*Aminokyselinové záměny na rozhraní matrixového proteinu a fosfoproteinu
Masonova-Pfizerova opičího viru blokující štěpení virovou proteasou*

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

*Destruktasy multirezistentních kmenů Staphylococcus aureus a jejich inhibice
adjuvantní terapií*

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

Potvrzení role adenylyltransferasy v rezistenci ke gentamycinu v MRSA 9

[Bc. Lucie Hodbořová](#) (M2, Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.)

*Studium interakce HIV-1 proteasy s fúzními proteiny odvozenými od matrixového
a kapsidového proteinu viru HIV-1*

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

*Inhibitory karbapenemas: Nový pohled na léčbu rezistence k β -laktamovým
antibiotikům*

[Dajana Kolářová](#) (B3, Ing. Michaela Marková, Ph.D.)

Funkční charakterizace C-koncové části mykobakteriální inosinmonofosfát-5-dehydrogenasy

[Bc. Jakub Musil](#) (M2, doc. Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.)

ABCF ATPase regulates gene expression by ribosome-mediated attenuation

[Bc. Anežka Sigmundová](#) (M2, Ing. Eva Benešová, Ph.D.)

Rekombinantní produkce beta-galaktosidasy z bakterie Microscilla sp. PRE1

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - ENZYMOLOGIE



Aminokyselinové záměny na rozhraní matrixového proteinu a fosfoproteinu Masonova-Pfizerova opičího viru blokující štěpení virovou proteasou

Bc. Barbora Bajerová (M1)

Školitel: Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

Masonův-Pfizerův opičí virus (M-PMV) je retrovirus z rodu *Betaretrovirus*. Životní cyklus M-PMV se dá rozdělit na časnou a pozdní fázi. Během pozdní fáze dochází ke skládání virové částice, jejímu transportu k buněčné membráně, pučení a následné maturaci. Během maturace nezralé virové částice dochází k sekvenčnímu štěpení virového polyproteinu Gag virovou proteasou a to vede k významným morfologickým změnám, které jsou podstatné pro vznik zralé virové částice schopné infekce nové hostitelské buňky. N-koncovou doménou polyproteinu Gag je matrixová (MA) doména, která se podílí na transportu nezralé virové částice k cytoplasmatické membráně a jejich následné interakci. Pro studium významu štěpení MA v další maturaci virové částice bylo zapotřebí ověřit, které aminokyselinové záměny ve fúzním proteinu MA-PP zabrání jeho štěpení. Tyto aminokyselinové záměny budou následně použity ke studiu maturace M-PMV *in vivo*. Cílem práce bylo navrhnout a připravit fúzní proteiny MA-PP M-PMV s aminokyselinovými záměnami v okolí štěpného místa a otestovat štěpení těchto proteinů virovou proteasou. Podařilo se nám ověřit, že aminokyselinové záměny A101K, A102K a M100P v MA-PP blokují jeho štěpení virovou proteasou.

Destruktasy multirezistentních kmenů Staphylococcus aureus a jejich inhibice adjuvantní terapií

Bc. Michal Dvořák (M2)

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

Staphylococcus aureus je jedním z nejobávanějších patogenů dnešního světa. Jeho multirezistentní kmeny (MRSA či VRSA) se šíří obzvláště v nemocničním prostředí a způsobují stále hůře léčitelné infekce. Naději pro úspěšnou léčbu představuje tzv. adjuvantní terapie, která spočívá v inhibici konkrétního mechanismu rezistence nízkomolekulární látkou (adjuvans) a následnou léčbu infekce tím antibiotikem, které mělo být příslušným mechanismem rezistence eliminováno. Jedním z masivně rozšířených enzymů, který způsobuje rezistenci MRSA vůči mnoha aminoglykosidům, je bifunkční enzym AAC/APH (aminoglykosid-acetyltransferasa/fosfotransferasa). Po klonování příslušného genu z chromosomální DNA MRSA jsme bifunkční enzym úspěšně produkovali, purifikovali a zavedli vhodné metody pro stanovení obou jeho aktivit. Na základě pokusů s MRSA byly vybrány flavonoidní, steroidní a selenoesterové látky, u kterých byl změřen jejich inhibiční vliv na aktivitu bifunkčního AAC/APH. Dle výsledků jsme vytipovali hlavní strukturní rysy adjuvans a přibližně určili i místo jejich vazby na enzym. Získaná data budeme dále ověřovat na rozdělených strukturně-funkčních doménách bifunkčního AAC/APH. Specifitu inhibitorů ověříme také na další acetyltransferase, která způsobuje rezistenci k chloramfenikolu.

Potvrzení role adenylyltransferasy v rezistenci ke gentamycinu v MRSA 9

Bc. Jakub Halbrštát (M2)

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

MRSA, neboli Meticilin-rezistentní zlatý stafylokok, je naším nejobávanějším problémem v medicíně. Díky šíření antibiotické rezistence, se v roce 2050 přepokládá, že infekce *Staphylococcus aureus* bude nejčastější příčinou úmrtí (v dnešní době nejčastější příčinou úmrtí je rakovina). Cílem této práce je najít v genu enzym adenylyltransferasu *ant(4')-Ia*, který je zodpovědný za modifikaci aminoglykosidových antibiotik (například: gentamycin, kanamycin, streptomycin,...), které se využívají při léčbě zlatým stafylokokem. Mechanismus modifikace probíhá tak, že se přenáší AMP z ATP na cílové aminoglykosidové antibiotikum. V této práci jsme v databázi vyhledali sekvenci adenylyltransferasy a nechali jsme si podle ní nasyntetizovat plasmid. Poté jsme rekombinantně produkovali protein s histidovou kotvou, pročistili afinitní chromatografií, ověřili izolovaný protein pomocí Western blotu a následně jsme otestovali enzymovou aktivitu. V budoucnu chceme otestovat vybrané potenciální inhibitory, které by se mohly použít v klinické léčbě infekcí *Staphylococcus aureus*.

Studium interakce HIV-1 proteasy s fúzními proteiny odvozenými od matrixového a kapsidového proteinu viru HIV-1

Bc. Lucie Hodbod'ová (M2)

Školitel: Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

Inhibitory proteasy jsou jednou ze tříd antiretrovirových léků používaných k léčbě infekce virem HIV-1. HIV-1 proteasa je klíčový enzym v životním cyklu viru HIV-1 a je zodpovědná za štěpení virových polyproteinů na jednotlivé funkční jednotky, což je nezbytné pro tvorbu zralých infekčních částic. HIV-1 proteasa není sekvenčně specifická, avšak výskyt kompenzačních mutací v globulárních doménách polyproteinů a NMR experimenty naznačují možný vliv těchto domén na rozpoznání cílových míst štěpení. Cílem práce je studium interakce virové proteasy s fúzními proteiny odvozenými od polyproteinu Gag, které se liší přítomností globulární domény po stranách štěpného místa. Pro studium byly produkovány tři fúzní proteiny a aktivní i inaktivní forma HIV-1 proteasy. Fúzní proteiny byly navrženy tak, že jejich základem je matrixový protein a N-terminální doména kapsidového proteinu viru HIV-1, avšak liší se přítomností a počtem jednotlivých globulárních domén. Byly připraveny vektory pro produkci těchto proteinů v bakteriálních buňkách a proteiny byly produkovány a izolovány. Bylo provedeno štěpení fúzních proteinů proteasou a byl sledován vliv přítomnosti globulárních domén na štěpení. Následně bude studována interakce inaktivní proteasy s fúzními proteiny pomocí termoforézy.

Inhibitory karbapenemas: Nový pohled na léčbu rezistence k β -laktamovým antibiotikům

Bc. Zuzana Hurtová (M2)

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

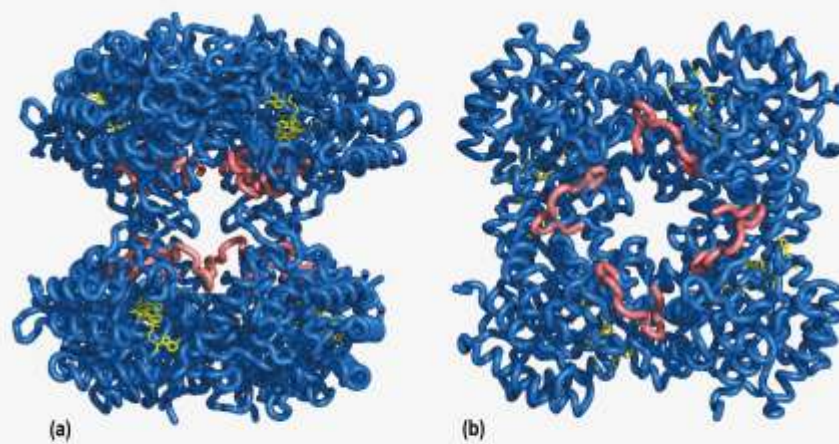
Rezistence vůči karbapenemům, širokospektrým β -laktamovým antibiotikům, je závažným celosvětovým problémem, který ohrožuje léčbu bakteriálních infekcí způsobených nejen nosokomiálními patogeny. Rezistence ke karbapenemům vzniká především produkcí karbapenemas, což jsou bakteriální hydrolytické enzymy schopné štěpení jak nových generací karbapenemů, tak i řady penicilinů a cefalosporinů. V případě úspěšné inhibice těchto enzymů by se již zavedená β -laktamová antibiotika stala znovu účinnými v boji proti bakteriálním infekcím způsobených ESBL kmeny. Tato práce se věnuje rekombinantní produkci a izolaci karbapenemasy 3 (KPC-3) z *Klebsiella pneumoniae*, její charakterizaci a studiu její inhibice deriváty kyseliny borité. Za účelem studia inhibičního potenciálu borátových sloučenin byla KPC-3 podrobena řadě testů enzymové aktivity v jejich přítomnosti. Bylo odhaleno, že hned několik sloučenin vyvolává slibný inhibiční efekt, kde byla pozorována snížená rychlost štěpení β -laktamového antibiotika jakožto substrátu. Tato zjištění nabízejí slibnou cestu k řešení rezistence vůči karbapenemům, konkrétně v souvislosti s ESBL kmeny produkujícími KPC-3 a potenciálním budoucím terapeutickým využitím identifikovaných inhibitorů.

Funkční charakterizace C-koncové části mykobakteriální inosinmonofosfát-5-dehydrogenasy

Dajana Kolářová (B3)

Školitel: Ing. Michaela Marková, Ph.D.

Mykobakteriální inosin-5'-monofosfát dehydrogenasa (IMPDH) je považována za slibný cíl pro vývoj antimikrobiálních látek. IMPDH je regulačním enzymem v metabolismu purinových bází vedoucí k syntéze GTP. Katalyzuje konverzi inosin-5'-monofosfátu na xantosin-5'-monofosfát za současné redukce NAD^+ . IMPDH se vyskytuje ve formě oktameru, ve kterém jsou jednotlivé protomery provázány pomocí C-konců tak, že C-konec první podjednotky zasahuje až k aktivnímu místu té další. Toto provázání v rámci oktameru by mohlo mít vliv na pozorované kooperativní chování enzymu, přesná molekulární funkce C-konců ale není známá. Práce se zabývá strukturní charakterizací C-konců IMPDH z *Mycobacterium smegmatis* a jejich významu pro aktivitu enzymu. Na základě strukturní analýzy byla navržena sada bodových mutací C-koncových zbytků, které se účastní interakcí s aktivním místem. Metodologie zahrnovala přípravu bakteriálních expresních vektorů pro sadu vybraných mutantů. Následovala heterologní exprese těchto mutantů v *E. coli* a purifikace exprimovaných proteinů pomocí imobilizační metalo-afinitní chromatografie. Nyní probíhá analýza reakční kinetiky mutantů pro zhodnocení vlivu mutací na enzymatickou aktivitu IMPDH. Tento projekt může přispět k lepšímu porozumění reakčního mechanismu IMPDH.



Obr 1. Umístění C-konců IMPDH v rámci oktamerního uspořádání.
 C-koncové části jsou zobrazeny růžově, žluté vyznačené jsou navázané substráty IMP a NAD^+ .
 (a) Boční pohled na oktamer,
 (b) Spodní pohled na tetramer,

ABCF ATPase regulates gene expression by ribosome-mediated attenuation

Bc. Jakub Musil (M2)

Školitel: doc. Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.

Nowadays, the rapid increase of antibiotic resistance seems to be one of the most important problems we have to deal with. The deciphering of new defence mechanisms plays a crucial role in the fight against the ever-evolving bacteria. One of these newly discovered mechanisms of antimicrobial defence is the ribosome-binding ABCF proteins found in all bacterial phyla. Not only are these ATPases known to confer resistance to antibiotics by binding the 50S ribosomal subunit, but recent research has also shown that some of these proteins act as regulators of bacterial gene expression. Recently, our laboratory reported that the ABCF ATPase LmrC is an antibiotic-responsive element that can activate gene expression of the transcriptional regulator LmbU. LmbU is a key transcriptional activator of the biosynthetic lincomycin gene cluster in the antibiotic producer *Streptomyces lincolnensis*. In my work, I hypothesise that LmrC activates transcription of lmbU through the mechanism of ribosome-mediated attenuation. This hypothesis was strongly supported by mapping the mRNA upstream regulatory region of lmbU. Ongoing testing of prepared reporter constructs with mutations in the same regulatory region shows further confirmation of the proposed mechanism.

*Rekombinantní produkce beta-galaktosidasy z bakterie *Microscilla* sp. PRE1*

Bc. Anežka Sigmundová (M2)

Školitel: Ing. Eva Benešová, Ph.D.

Beta-galaktosidasy jsou běžně biotechnologicky využívané enzymy. Jejich schopnost hydrolyzovat laktosu je široce využívána při výrobě bezlaktosových potravin nebo pro řešení environmentálních problémů spojených s odpadní syrovátkou. Kromě hydrolytické aktivity vykazují některé z těchto enzymů schopnost katalyzovat transglykosylační reakce, jejichž produkty jsou například prebiotika ve formě galaktooligosachridů. Schopnost transglykosylace je předpovězena zařazením proteinu do rodiny glykosylhydrolas s mechanismem se zachováním anomerní konfigurace. Rychlejší katalýza, vyšší afinita k substrátu či aktivita při extrémních podmínkách jsou důvody pro hledání nových zdrojů beta-galaktosidas. V této práci je studována beta-galaktosidasa z rodiny glykosylhydrolas 2, pro kterou je na základě struktury předpovězena transglykosylační schopnost. Gen pro tuto beta-galaktosidasu se nachází na megaplasmidu bakterie *Microscilla* sp. PRE1 izolované z pobřežních sedimentů v Kalifornii. Tento gen byl vložen do plasmidu pET16b metodou Gibson Assembly a správnost konstruktu byla ověřena sekvenací. Získaný vektor byl využit pro rekombinantní produkci beta-galaktosidasy v buňkách *E. coli* BL21 (DE3) a *E. coli* BL21 (DE3) Gold. Dalšími kroky bude charakterizace a výzkum katalytických schopností enzymu.

Interakce v biologických systémech

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

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

Ing. Sabina Purkrtová, Ph.D.

Ing. Jáchym Šuman, Ph.D.

Ing. Tereza Šmrhová

PROGRAM

09:00 **zahájení**

[Bc. Anna Dvořáková](#) (M2, Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.)

Cytotoxicita nových syntetických kathinonů in vitro a jejich interakce s vybranými dopaminovými receptory

[Bc. Veronika Jechová MA](#) (M2, None)

Účinky chlorovaných parafínů na směsnou buněčnou linii adipocytů a makrofágů

[Bc. Tereza Jedličková](#) (M2, None)

Vliv zvýšené hladiny nikotinamidfosforibosyltransferasy na buněčnou senescenci

[Bc. Anna Praská](#) (M2, Ing. Ludmila Karamonová, Ph.D.)

Interakce bakterií rodu Cronobacter s lidskými hostitelskými buňkami

[Bc. Eliška Sedláčková](#) (M2, Ing. Hana Michova, Ph.D.)

Induction of cell death by Bordetella effector protein BteA

[Bc. Roman Skala](#) (M2, doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.)

Vliv laktátu na buněčnou signalizaci

[Bc. Nikola Tulachová](#) (M2, doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.)

Vliv bilirubinu na in vitro model nealkoholové tukové nemoci jater

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - INTERAKCE V BIOLOGICKÝCH SYSTÉMECH

MERCK

Cytotoxicita nových syntetických kathinonů in vitro a jejich interakce s vybranými dopaminovými receptory

Bc. Anna Dvořáková (M2)

Školitel: Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.

Kata jedlá (*Catha edulis*) je rostlina využívaná pro svou schopnost stimulovat sekreci monoaminových neurotransmiterů v synaptické štěrbině. Požití listů této rostliny způsobuje například snížení únavy, zvýšení krevního tlaku, ztrátu apetitu či vyvolání euforie. Výše zmíněné účinky jsou způsobeny zejména alkaloidem kathinonem obsahujícím keto skupinu. Tato látka je svou strukturou podobná neurotransmiterům, čehož lze potenciálně využít například k léčbě depresí, Parkinsonovy choroby či schizofrenie. V současnosti existuje pouze jeden derivát kathinonu (bupropion) schválený pro klinické využití (léčba depresí). V této práci se věnujeme studiu pěti nových syntetických derivátů kathinonu a jejich interakcím s vybranými dopaminovými receptory D1 a D2 *in vitro* v buňkách metodou PRESTO-Tango a *in silico* pomocí molekulového dockingu. Kromě toho byla také stanovena cytotoxicita těchto nových potenciálně psychoaktivních látek v lidských buňkách neuroblastomu (SHSY-5Y), plicních fibroblastech (MRC-5), embryonálních ledvinových buňkách (HEK 293T) a buňkách karcinomu jater (HepG2). Z dosavadních měření *in vitro* se naše látky neprokázaly jako agonisté D1 a D2 receptoru. Dále budeme studovat antagonismus zmíněných látek pro tyto receptory.

Účinky chlorovaných parafínů na směsnou buněčnou linii adipocytů a makrofágů

Bc Veronika Jechová MA (M2)

Školitel: Ing. Vojtěch Škop, Ph. D.

Chlorované parafíny (CP) jsou perzistentní organické polutanty, o jejichž působení na organismus je minimum poznatků. CP jsou lipofilní povahy, proto bylo naším cílem studovat, zda budou ovlivňovat zánětlivé procesy v tukové tkáni. Prvním cílem bylo vytvoření *in vitro* modelu tukové tkáně, který by simuloval interakci mezi adipocyty a imunitními buňkami. Toho bylo docíleno společnou kultivací buněk adipocytů 3T3-L1 a makrofágů RAW264.7 ve směsné kultuře. Následně jsme sledovali účinek CP v koncentracích 0-100 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ na jednotlivé buněčné linie a směsnou kulturu. Účinek CP byl hodnocen na základě měření zánětlivé odpovědi Griessovou metodou jakožto produkce dusitanů. Rovněž byla hodnocena viabilita na základě metabolické aktivity buněk za využití komerční soupravy WST-1. Po přidání CP jsme pozorovali obecný trend ve zvyšování produkce dusitanů makrofágy, zatímco směsná kultura si po celou dobu držela stabilní produkci dusitanů. Dále výsledky ukázaly, že ve směsné kultuře s rostoucí koncentrací CP klesal detekovaný signál dusitanů a současně klesala viabilita buněk. Výrazný pokles signálu dusitanů jsme pak sledovali od 10 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$. Naše výsledky ukazují, že CP mohou negativně působit na buňky a ovlivnit zánětlivou odpověď v tukové tkáni.

Vliv zvýšené hladiny nikotinamidfosforibosyltransferasy na buněčnou senescenci

Bc. Tereza Jedličková (M2)

Školitel: Ing. Vojtěch Škop, Ph. D.

Se vzrůstajícím věkem dochází v organismu k akumulaci senescentních buněk, což je nežádoucí a přispívá to k rozvoji onemocnění jako je diabetes mellitus 2. typu nebo ateroskleróza. Mimo jiné senescenci provází snížené množství NAD. Není však jasné, zda by zvýšení hladiny NAD dokázalo senescenci zabránit nebo její rozvoj zpomalit. V této studii jsme zjišťovali, zda budou preadipocyty 3T3-L1 se zvýšenou hladinou nikotinamidfosforibosyltransferasy (Nampt), což je enzym určující rychlost biosyntetické dráhy NAD vycházející z nikotinamidu, méně náchylné k senescenci. Senescence byla navozována H_2O_2 o koncentraci $250 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$. V případě kontrolních buněk vedlo ošetření H_2O_2 k rozvoji senescence u $49,3 \pm 5,5$ % živých buněk. Podobné množství senescentních buněk ($42,3 \pm 4,7$ %) však bylo nalezeno i v případě buněk se zvýšeným množstvím Nampt. Syntéza NAD byla dále podpořena přidáním nikotinamidu (substrátu Nampt) do média v rozmezí $0,5\text{-}10 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$. Ani přídavek nikotinamidu nevedl k větší rezistenci vůči senescenci indukované H_2O_2 . Výsledky naznačují, že zvýšení hladiny NAD není vhodný přístup k prevenci senescence.

Interakce bakterií rodu Cronobacter s lidskými hostitelskými buňkami

Bc. Anna Praská (M2)

Školitel: Ing. Ludmila Karamonová, Ph.D.

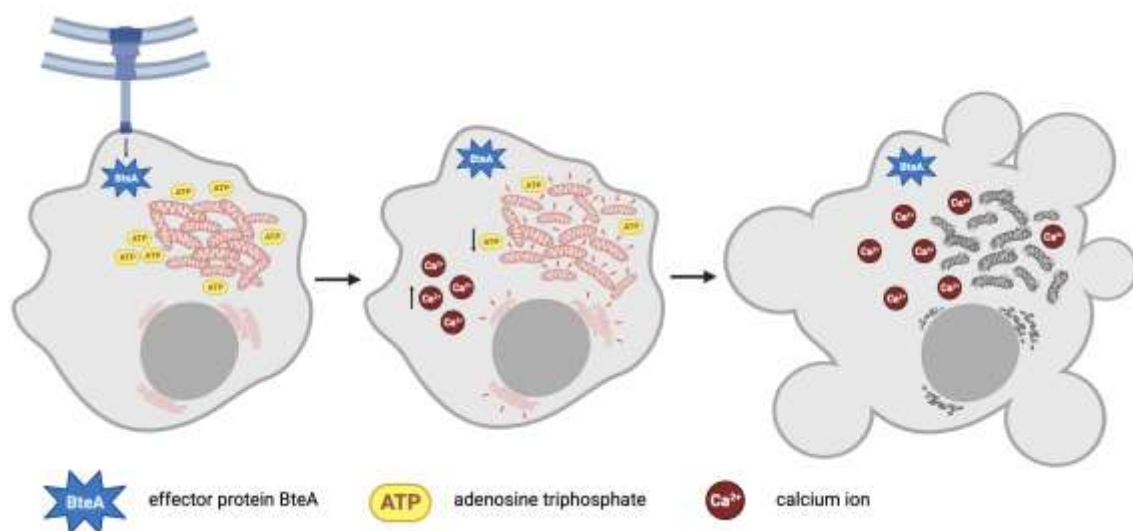
Bakteriální rod *Cronobacter* náleží mezi oportunní patogeny způsobující infekce jedincům s oslabenou imunitou. Epidemiologické studie však ukazují, že závažná onemocnění způsobují pouze některé druhy. Častým zdrojem nákazy jsou potraviny. K tomu, aby bakterie získaly přístup k systémovému oběhu hostitele, musí nejprve překonat střevní epitel. Úspěšný přestup závisí na schopnostech bakterií adherovat na jeho povrch a invadovat do epiteliálních buněk. Oba procesy byly v této práci studovány na monovrstvě diferenciovaných buněk Caco-2. Obdobně byla sledována interakce s makrofágy U-937, kde byla pozornost zaměřena na proliferaci bakterií uvnitř těchto buněk. Nejprve byly nalezeny vhodné podmínky diferenciaci buněčných linií a inkubace *Cronobacter*. Poté byla porovnána míra interakcí (adheze, invaze a proliferace) jednotlivých druhů *Cronobacter* s buněčnými liniemi. Nejvyšší míra interakce s liniemi Caco-2 byla pozorována u *C. sakazakii*, *C. malonaticus* a *C. turicensis*. V makrofázích se výrazněji replikoval pouze *C. sakazakii*. Tato zjištění korelují s klinickou významností těchto druhů. Jelikož infekce některými druhy *Cronobacter* může u novorozenců vést i k rozvoji meningitidy, bude výzkum pokračovat sledováním působení bakterií na model hematoencefalické bariéry tvořený buňkami HBMEC.

Induction of cell death by *Bordetella* effector protein BteA

Bc. Eliška Sedláčková (M2)

Školitel: Ing. Hana Michova, Ph.D.

Classical *Bordetella* species typically target the respiratory tract of mammals. *B. bronchiseptica* causes chronic respiratory infections in numerous mammals, while *B. pertussis* is a human-specific pathogen and the etiologic agent of whooping cough. These bacteria possess an array of virulence factors that are responsible for their pathogenicity. One of them is the effector protein BteA, which is delivered to host cells through the type III secretion system. Once injected into the target cell, BteA induces cell death. However, the molecular mechanisms underlying the cytotoxic properties of BteA are still unknown. This study aims to characterize morphological and biochemical aspects of BteA-induced cell death. Upon infection of HeLa cells with *B. bronchiseptica*, we observed necrotic blebbing of the cytoplasmic membrane characterized by the formation of balloon-like spherical protrusions and permeabilization of the cytoplasmic membrane. Visualization of mitochondria and endoplasmic reticula revealed their fragmentation and loss of contact sites. These changes were preceded by disruption of calcium homeostasis, mitochondria calcium overload, and loss of mitochondrial potential. We suggest that BteA induces cell necrosis via cell energetic catastrophe.



Vliv laktátu na buněčnou signalizaci

Bc. Roman Skala (M2)

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

Laktát je metabolit běžně vznikající v našem organismu a to především během intenzivní fyzické aktivity. Může fungovat i jako mitochondriální signál skrze mírné zvýšení hladiny reaktivních forem kyslíku (ROS), které pozorujeme po jeho přidání k buňkám. Tím se aktivuje antioxidační odpověď a tvorba nových mitochondrií v buňce. Tento proces se nazývá mitohormese a mohl by oddalovat buněčnou senescenci. Cílem této práce je porovnání lidských plicních fibroblastů MRC-5, které byly konstantně ovlivněny laktátem, s fibroblasty neovlivněnými. U buněk byla sledována produkce ROS a mitochondriální membránový potenciál pomocí fluorescenčních prób. Pomocí qRT-PCR byla sledována hladina mRNA vybraných genů. Buněčná senescence byla vizualizována barvením senescentních buněk pomocí chromogenního substrátu X-gal a kvantifikována obrazovou analýzou. Buňky vystavené laktátu měly méně mitochondrií a vyšší hladiny ROS. Expres genů souvisejících se senescencí, apoptózou, karcinogenezí a antioxidační odpovědí u nich byla nižší. Ve střední pasáži vykazovaly i menší procento senescentních buněk. U buněk ovlivněných laktátem je tedy pozorován jistý ochranný efekt proti stárnutí a karcinogenezi.

Vliv bilirubinu na in vitro model nealkoholové tukové nemoci jater

Bc. Nikola Tulachová (M2)

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

Nealkoholové tukové onemocnění jater spojené s metabolickou dysfunkcí (MASLD) je chronické onemocnění související s nezdravým životním stylem a obezitou. Je jím postiženo 30 % světové populace a jeho prevalence stále roste. S absencí cílené léčby MASLD souvisí zvýšený rozvoj steatohepatitidy, případně až hepatocelulárního karcinomu. Potenciálními kandidáty na léčiva jsou agonisté nukleárního receptoru PPARa, který aktivuje např. β -oxidaci mastných kyselin (MK). Agonistou PPARa je hypolipidemikum fenofibrát (FF) a ukazuje se, že i bilirubin (BR), žlučový pigment vznikající rozpadem hemoglobinu. Právě mírná hyperbilirubinémie snižuje riziko rozvoje MASLD, avšak přesný mechanismus účinku není znám. Cílem práce bylo sledování účinku BR na *in vitro* model MASLD (využita buněčná linie HepG2). Buňky byly indukovány kys. olejovou (OA) a palmitovou (PA), poté ovlivněny dvěma koncentracemi BR a FF (pozitivní kontrola). Viabilita byla měřena MTT testem. K měření intracelulárních koncentrací MK – stearové (STEA), linolové (LINO), OA, PA – byla zavedena metoda na GC/MS. Použité koncentrace neměly na viabilitu vliv. U indukovaných buněk ovlivněných BR a FF došlo k poklesu koncentrací OA, PA, STEA a LINO. Výsledky naznačují, že BR i FF mohou snížit ukládání lipidů, a zpomalit tak rozvoj MASLD.

Mikrobiologie

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

doc. Ing. Jitka Viktorová, Ph.D. (předseda)

Ing. Eva Jablonská, Ph.D.

Ing. Vojtěch Škop, Ph.D.

Ing. Barbora Vokatá

PROGRAM

09:00 **zahájení**

[Bc. Maksym Bilozerskyi](#) (M1, prof. Ing. Kateřina Demnerová, CSc.)

Interakce bakterií a kompozitu na bázi nanodiamantu a stříbra

[Bc. Václav Borůvka](#) (M2, Ing. Hana Stiborová, Ph.D.)

Interakce nanodiamantů s bakteriemi

[Bc. Katarína Lazoriková](#) (M2, Ing. Eva Šviráková, Ph.D.)

Zdravotní mikrobiologická bezpečnost nealkoholických nápojů

[Bc. Lucie Sytařová](#) (M2, Ing. Hana Sýkorová, Ph.D.)

*Charakterizace kmenů *Bacillus cereus* izolovaných ze vzorků rýže*

[Bc. Denisa Vondrová](#) (M2, Ing. Hana Michová, Ph.D.)

*Sociální život *Aeromonas schubertii*: Charakterizace růstu, tvorby biofilmu a produkce signálních molekul*

[Bc. Magdaléna Vydrová](#) (M2, Ing. Michal Strejček, Ph.D.)

*Charakterizace nových environmentálních izolátů rodu *Cellulomonas**

[Bc. Adéla Zrnová](#) (M2, Ing. Sabina Purkrťová, Ph.D.)

*Identifikace bakterií čeledi *Bacillaceae**

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - MIKROBIOLOGIE



Interakce bakterií a kompozitu na bázi nanodiamantu a stříbra

Bc. Maksym Bilozerskyi (M1)

Školitel: prof. Ing. Kateřina Demnerová, CSc.

Kmeny bakterií rezistentní k antibiotikům a dezinfekčním prostředkům se rozšířili na globální úrovni a představují značný problém pro veřejné zdravotnictví a farmaceutický sektor. V této souvislosti se zkoumají slibné nanokompozity na bázi nanodiamantů a stříbra, které by mohly mít nejen antibakteriální účinky, ale také potenciál pro využití v biosenzorice a při cíleném podání léčiv. V presentované práci byly zkoumány hydrogenované a oxygenované nanokompozity o dvou velikostech, s/bez stříbra. Na vybraných grampozitivních a gramnegativních kmenů bakterií byla prokázána inhibiční schopnost hydrogenovaného kompozitu se stříbrem již v koncentraci 0,1 mg/ml, naopak oxygenované kompozity nevykazovaly žádnou významnou inhibiční schopnost. Více pozornosti bylo věnováno analýze vztahů mezi inhibičními schopnostmi nanokompozitů, jejich stabilitou a velikostí částic, což bylo sledováno pomocí metod DLS a FT-IR. Další výzkum bude zaměřen na podrobnější popsání mechanismu antibakteriální aktivity, stability vzorků v různých prostředích, stanovení MIC, vliv účinných koncentrací na bakteriální proliferaci a biokompatibilitu.

Interakce nanodiamantů s bakteriemi

Bc. Václav Borůvka (M2)

Školitel: Ing. Hana Stiborová, Ph.D.

Cílem této práce je analyzovat vliv nového druhu nanodiamantů na růst bakterií a na schopnost bakterií tvořit biofilm. Použitým materiálem jsou nanokompozity nanodiamantů s nanočásticemi stříbra vázanými chitosanem (ND). Byly analyzovány čtyři druhy ND o velikosti 18 nm a 125 nm, s oxidovaným nebo hydrogenovaným povrchem, v roztoku o koncentraci 0,1 mg/ml. Interakce byly testovány pro bakterie *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* a *Escherichia coli*. Nejprve byla stanovena schopnost ND inhibovat růst bakteriální kultury v suspenzi, následně schopnost inhibice tvorby biofilmu a eradikace již narostlého biofilmu. Bylo vyzkoušeno několik metod detekce tvorby biofilmu. Metoda barvení krystalovou violetí se prokázala jako nepřesná z důvodu interakcí barviva s chitosanem obsaženým v nanokompozitu, místo toho byla použita metoda sonikace a stanovení KTJ. Dosavadní výsledky ukazují výrazně vyšší schopnost inhibice růstu bakterií u ND s hydrogenovaným povrchem. ND o velikosti 18 nm vykazují vyšší inhibici růstu bakterií i tvorby biofilmu než ND o velikosti 125 nm. Další postup práce by měl směřovat k určení schopnosti ND eradikovat již narostlý biofilm, objasnění mechanismu působení vybraných ND a prozkoumání závislosti účinnosti ND na jejich koncentraci.

Zdravotní mikrobiologická bezpečnost nealkoholických nápojů

Bc. Katarína Lazoriková (M2)

Školitel: Ing. Eva Šviráková, Ph.D.

Přestože nealkoholické nápoje patří mezi bezpečné výrobky, během jejich výroby, skladování nebo distribuce může docházet k nežádoucí mikrobiální kontaminaci s následným kažením a případným vznikem zdravotních problémů u konzumentů. Proto je zajištění jejich zdravotní mikrobiologické bezpečnosti věnována zvýšená pozornost. Na kontaminaci nápojů se často podílejí acidotolerantní bakterie. K obávaným patří *Asaia bogorensis* a *Asaia lannensis* mající statut semipatogenních bakterií. K účinným cestám jejich eliminace se nabízí použití přírodní antibakteriálně aktivní látky – chitosanu. Cílem této práce je zjistit toleranci vybraných kmenů *Asaia lannensis* k chitosanu (0; 0,2; 0,5, 1,0 a 1,5 hm. %), a to v modelových kultivačních bujónech (s využitím laboratorního bioreaktoru RTS–8), a také v modelových ovocných sirupech během skladovacích pokusů (s využitím laboratorního denzitometru Densi-la-meter II). Na základě uskutečněných experimentů bylo konstatováno, že se zvyšující se koncentrací chitosanu docházelo k redukci růstu testovaných bakterií, a že chitosan vykazoval pouze bakteriostatický účinek. Získané výsledky mohou být využity v nápojářském průmyslu, zejména při výrobě ovocných sirupů, při cílené eliminaci nežádoucích bakterií *Asaia lannensis* s využitím potenciálu chitosanu.

Charakterizace kmenů *Bacillus cereus* izolovaných ze vzorků rýže

Bc. Lucie Sytařová (M2)

Školitel: Ing. Hana Sýkorová, Ph.D.

Bacillus cereus je vzhledem ke schopnosti tvorby velmi odolných endospor často spojován s bezpečností potravin. Vybrali jsme 15 různých rýží dostupných v běžné obchodní síti České republiky. Ve všech sledovaných vzorcích byla potvrzena přítomnost spor *Bacillus cereus*. Pokud je kontaminovaná rýže uvařená a nesprávným způsobem skladovaná, endospory vyklíčí ve vegetativní buňky, které mohou produkovat různé toxiny. Tyto toxiny následně mohou konzumentovi způsobit různá alimentární onemocnění. Nicméně ne všichni zástupci skupiny *Bacillus cereus* disponují všemi toxiny. Pomocí PCR cílené na detekci genů pro vybrané toxiny jsme zmapovali toxigenní potenciál souboru kmenů zařazených do skupiny *Bacillus cereus* izolovaných z různých rýží. Následně jsme se zaměřili na genotypizaci těchto izolátů pocházejících z rýží z různých částí světa s cílem určit jejich příbuznost. Využili jsme k tomu různé genotypizační techniky (REP-PCR, RAPD-PCR, BOX-PCR, ERIC-PCR). Předmětem práce také bude vzájemné porovnání jednotlivých genotypizačních technik s důrazem na jejich rozlišovací schopnost v rámci značně homogenní skupiny *Bacillus cereus*.

*Sociální život *Aeromonas schubertii*: Charakterizace růstu, tvorby biofilmu a produkce signálních molekul*

Bc. Denisa Vondrová (M2)

Školitel: Ing. Hana Michova, Ph.D.

Aeromonas schubertii je relativně málo prostudovaný, ale celosvětově významný zástupce rodu *Aeromonas*. Jedná se o volně žijící gramnegativní tyčinky, které díky své mimořádné adaptabilitě osidlují pestrkou škálu vodních ekosystémů a kolonizují především studenokrevné vodní živočichy. Zatímco některé druhy *Aeromonas* mohou vystupovat jako prospěšní symbionti, *A. schubertii* je patogen schopný decimovat rybí chovy a způsobovat tak významné ekonomické ztráty. V posledních letech jsou aeromonády hlášeny i jako původci gastroenteritid, ale také septikémií a dalších závažných onemocnění člověka. Na adaptaci k prostředí a kolonizaci hostitele se velkou mírou podílí procesy zajišťující sociální život bakterií, mezi něž patří schopnost tvořit biofilm a aktivní mezibuněčná komunikace prostřednictvím signálních molekul. Cílem práce je tyto procesy charakterizovat. U vybraného kmene byla vizualizována morfologie buněk v závislosti na růstové fázi pomocí SEM, určena produkce signálních molekul *N*-acyl homoserin laktonů (AHL) s využitím HPLC-MS a stanoveno relativní množství biofilmu produkovaného za různých kultivačních podmínek pomocí barvení krystalovou violetí. Dále byl zkonstruován mutant s delecí AHL synthasy, který umožní identifikovat buněčné procesy regulované AHL molekulami.

Charakterizace nových environmentálních izolátů rodu *Cellulomonas*

Bc. Magdaléna Vydrová (M2)

Školitel: Ing. Michal Strejček, Ph.D.

S narůstajícím počtem celogenomových sekvencí dochází nejen k velmi častým taxonomickým reklasifikacím mikroorganismů, ale rovněž k rozkolům mezi klasickou taxonomií (ICNP) a taxonomií založenou na genomických datech (GTDB). Tato situace nastává například u rodu *Cellulomonas*, ubikvitního v životním prostředí, jehož vybraní zástupci disponují biotechnologickým potenciálem. Některé druhy tohoto rodu vykazují enzymatickou aktivitu umožňující rozklad celulosy a hemicelulosy, jako je tomu například u zástupce *C. flavigena*. Tato práce se zabývá tímto rodem a enzymatickým potenciálem jeho nově izolovaných zástupců. Jedním z cílů je provedení celogenomové analýzy fylogeneticky nových zástupců a jejich následné taxonomické zařazení. Rovněž je ověřována enzymatická aktivita izolovaných zástupců jak predikcí za využití bioinformatických nástrojů, tak experimentálně. Z dosavadních výsledků je patrná celulolytická aktivita u vybraných izolátů rodu *Cellulomonas*, jež byly získány z prostředí rašelinišť. Zároveň byla provedena celogenomová analýza fylogeneticky nového izolátu, která naznačuje existenci zcela nového rodu čeledi *Cellulomonadaceae*.

Identifikace bakterií čeledi *Bacillaceae*

Bc. Adéla Zrnová (M2)

Školitel: Ing. Sabina Purkrťová, Ph.D.

Kontaminace archiválií bakteriemi může vést k jejich biodegradaci. Pro vývoj strategií na jejich ochranu je klíčové studium přítomného mikrobiomu včetně izolace a identifikace bakteriálních kmenů. Cílem práce je identifikace 35 vybraných bakteriálních izolátů ze vzorků fotografických a kinematografických materiálů, jejichž identifikace metodou MALDI-TOF MS (metoda první volby) nebyla dostatečně spolehlivá. Tyto izoláty byly proto identifikovány metodou sekvenace genu pro 16S rRNA. Pro PCR amplifikaci byly použity univerzální primery W001 a W002, jimž odpovídající PCR amplikon (1500 bp) zahrnuje celou sekvenci genu pro 16S rRNA. Spolehlivě sekvenované úseky, porovnávané s referenčními databázemi, byly však dlouhé pouze 500 – 800 bp. U rodů čeledi *Bacillaceae* (63 % izolátů), jako rody *Bacillus* a nově zavedené rody jako *Mesobacillus* nebo *Peribacillus*, byla výzvou obtížná identifikace na úrovni druhu z důvodu minimálních rozdílů sekvenovaných úseků genu pro 16S rRNA mezi některými druhy. Pro zhodnocení přínosu úpravy sekvenačního protokolu byla provedena analýza celkové diverzity genu pro 16S rRNA mezi jednotlivými druhy. Dále byl proveden výběr dalších konzervovaných genů pro identifikaci na základě genotypu a výběr biochemických testů pro identifikaci na základě fenotypu.

Proteomika

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

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

Ing. Ludmila Karamonová, Ph.D.

Ing. Jana Kadavá

Ing. Gabriela Kapinusová

PROGRAM

09:00 **zahájení**

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

Vplyv teplotných podmienok na určenie zvieracieho pôvodu kostí

[Bc. Veronika Brožková](#) (M1, doc. Ing. Lenka Burketová, CSc.)

Souvislost mezi imunitní odpovědí rostlin řízenou kyselinou salicylovou a reakcí na špatně sbalené proteiny

[Bc. Klára Daniševská](#) (M2, Ing. Jan Prchal, Ph.D.)

Identifikace spouštěčů myristoylového přepínače viru M-PMV a jejich role v pozdní fázi infekce

[Bc. Magdalena Havlová](#) (M1, doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.)

Charakterizace proteinu JASPer a jeho komplexu s kinasou JIL-1

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

Porovnání různých způsobů homogenizace masa před genetickou analýzou

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

Vývoj proteomické metody jako nástroje v boji proti pašování ohrožených zvířecích druhů

[Bc. Anna Sekyrová](#) (M2, Ing. Jiří Šantrůček, Ph.D.)

Vliv bezsérových médií na proteom a sekretom osteoblastických buněčných linií

[Bc. Adéla Sukupová](#) (M2, prof. Dr. Ing. Radovan Hynek)

Proteomická analýza nerozpustných biologických vzorků metodou přímého štěpení trypsinem

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - PROTEOMIKA



Vplyv teplotných podmienok na určenie zvieracieho pôvodu kostí

Bc. Katarína Bjalončíková (M2)

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

Identifikácia zvieracieho pôvodu tepelne upravených zvieracích kostí je dôležitá napríklad v archeológii, keďže nám môže poskytnúť pohľad na minulé spôsoby života, kultúry a environmentálne podmienky, ale tiež je dôležitá vo forenzných vedách a v potravinárskom priemysle. A preto bolo cieľom tejto práce pomocí proteomické analýzy určiť živočíšny pôvod vybraných zvieracích kostí (jahňata, kravy, prasaťa a sliepky). Stehenné kosti týchto zvierat sa varili pri teplote 100 °C a piekli pri teplote 180 °C po dobu 2 hodín. K porovnaní sa použili kosti, ktoré neboli tepelne spracované. Vzorky sa najskôr demineralizovali (24 hodín) a následne sa štiepili trypsínom (4 hodiny). Na prečistenie vniknutých peptidov sa použila reverzná fáza ZipTip C18. K analýze sa využila metóda hmotnostnej spektrometrie MALDI-TOF. K vyhodnoteniu spektier bol použitý počítačový software mMass a následne sa pre spracovanie dát použil databázový systém PostgreSQL, ku ktorému sa pristupovalo pomocou nástroja pgAdmin. Týmto spôsobom sa získali charakteristické m/z hodnoty pre jednotlivé živočíšne druhy a rôznym spôsobom opracované kosti. V budúcnosti sa práca zameria na vzorky jeleňa, kačky a kozy a na určenie zvieracieho pôvodu kostí prostredníctvom hmotnostnej spektrometrie typu LC-ESI-Q-TOF.

Souvislost mezi imunitní odpovědí rostlin řízenou kyselinou salicylovou a reakcí na špatně sbalené proteiny

Bc. Veronika Brožková (M1)

Školitel: doc. Ing. Lenka Burketová, CSc.

Studium rostlin a jejich imunitního systému je důležité pro hledání řešení stále vyšší produkce zemědělských plodin a s tím spojeného nadměrného používání pesticidů. Je nutné porozumět tomu, jak se rostliny brání stresům z vnějšího prostředí. Obranný systém rostlin je velmi komplikovaný a některé mechanismy adaptace na stresové podmínky se na buněčné úrovni překrývají. Tato práce zkoumá propojení signálních drah, které jsou aktivovány při odpovědi na přítomnost patogenů (a jsou řízeny kyselinou salicylovou) a drah, které regulují produkci a sbalování proteinů (konkrétně ty, které jsou zodpovědné za reakci na stres způsobený špatně sbalenými proteiny). Experimenty provedené v rámci této práce potvrdily souvislost imunitní reakce s odpovědí na špatně sbalené proteiny a prokázaly, že spojení vede přes imunitu aktivovanou molekulovými vzory asociovanými s patogeny. Bylo prokázáno, že v odpovědi na stres způsobený špatně sbalenými proteiny má nepostradatelnou funkci větev vedoucí přes IRE1. Dále byla prokázána souvislost reakce na akutní stres endoplazmatického retikula v listech se signalizací kyselinou salicylovou. V rámci další práce je plánováno provedení experimentů, které ověří získané hypotézy.

Identifikace spouštěčů myristoylového přepínače viru M-PMV a jejich role v pozdní fázi infekce

Bc. Klára Daniševská (M2)

Školitel: Ing. Jan Prchal, Ph.D.

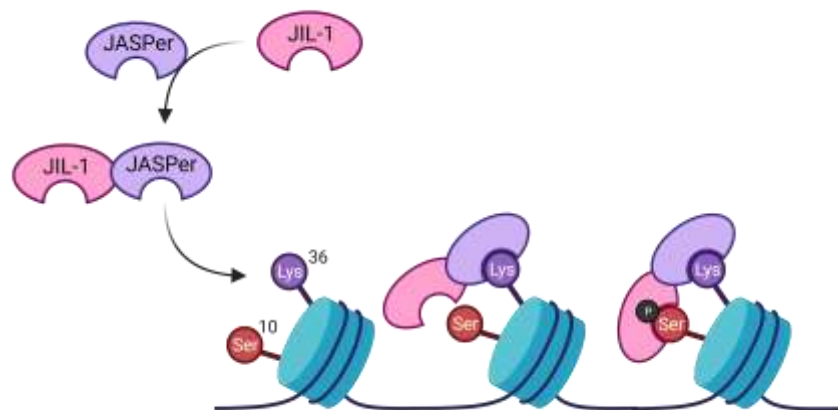
Matrixový protein MA je N-koncová doména Gag polyproteinu Masonova-Pfizerova opičího viru M-PMV, jenž je zodpovědná za jeho interakci s cytoplasmatickou membránou hostitelské buňky během pozdní fáze virové infekce. N-koncový glycin matrixového proteinu je myristoylován a tato posttranslační modifikace je esenciální pro vazbu Gag k membráně. Tato vazba je reversibilní, a proto musí matrixový protein existovat ve dvou stavech – ve stavu, kdy je myristát exponovaný a může zprostředkovat vazbu na membránu a ve stavu, kdy je zanořen do hydrofóbní kapsy matrixu, když se nachází volně v cytoplasmě. Přechod mezi těmito stavy se nazývá myristoylový přepínač. V rámci této práce se zabýváme identifikací spouštěčů myristoylového přepínače. Bylo zjištěno, že myristoylový přepínač řídí odštěpování MA od Gag virovou proteasou, čehož jsme využili pro jeho studium. Dále byl zkoumán vliv interakce matrixového proteinu s kalmodulinem. Kalmodulin je všudypřítomný a vysoce konzervovaný protein a je známo, že HIV-1 i další viry jej využívají při infekci buňky. Naše výsledky ukazují, že interakce s kalmodulinem podporuje vazbu matrixového proteinu M-PMV na cytoplasmatickou membránu a spouští myristoylový přepínač.

Charakterizace proteinu JASPer a jeho komplexu s kinasou JIL-1

Bc. Magdalena Havlová (M1)

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

Fosforylace serinu 10 histonu H3 zabraňuje kondenzaci chromatinu a umožňuje aktivní transkripci genů z rozvolněné DNA. U *Drosophila melanogaster* většinu těchto fosforylací katalyzuje kinasa – JIL-1, která neobsahuje doménu vázající se na chromatin. Tuto funkci zastupuje protein JASPer, jenž rozpoznává specifické místo na histonu a po tvorbě stabilního komplexu s JIL-1 navede kinasu k nukleosomu. Lidský homolog proteinu JASPer, LEDGF/p75, má podobnou funkci, doménovou organizaci a také dimerizuje. LEDGF hraje roli i v HIV infekci nebo vzniku rakoviny, což zdůrazňuje důležitost studia těchto „naváděcích“ proteinů. Pro hlubší porozumění navedení k chromatinu je důležité znát strukturu JIL-1:JASPer komplexu. Dostupná je jen predikce struktury jednotlivých proteinů a komplexu v programu AlphaFold. Pro experimentální ověření byly vazebné domény obou proteinů rekombinantně produkovány a purifikovány pro NMR analýzu. Dynamická dimerizace JASPeru interferovala s měřením, proto byly připraveny zkrácené konstrukty JASPeru pro ovlivnění dimerizace. S vybraným konstruktem byly následně provedeny crosslink experimenty, jako vhodné doplnění strukturních metod. Prozatím byla potvrzena tvorba dimeru a komplexu. Tyto poznatky přispějí k objasnění regulace transkripce eukaryotních organismů.



Porovnání různých způsobů homogenizace masa před genetickou analýzou

Bc. Štěpánka Králová (M2)

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

Účinná izolace genetického materiálu a bílkovin má zásadní význam pro dosažení relevantních výsledků celé analýzy. Prvním krokem efektivní izolace DNA s vidinou velkého výtěžku je zvolení vhodné homogenizace. Cílem této práce je určení vhodného způsobu homogenizace rybí svaloviny před genetickou a následně i proteomickou analýzou. Byly porovnány tři způsoby homogenizace vzorku (analytický mlýnek, vysokotlaká homogenizace, FastPrep) se vzorkem nehomogenizovaným. Jako vzorek byly zvoleny filety z lososa obecného (*Salmo salar*), pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) a pstruha „lososovitého“ (*Oncorhynchus mykiss*). Izolace DNA byla provedena metodou využívající cetyltrimethylamonium bromid (CTAB) a její koncentrace byla následně měřena spektrofotometricky i fluorimetricky. Kvalita izolované DNA byla ověřena pomocí horizontální agarosové elektroforézy. Poté následovala qPCR, ve které byly použity primery amplifikující mitochondriální gen cytochrom c oxidázy podjednoty I (COI). V následujícím kroku analýzy byla provedena Sangerova sekvenace a DNA barcoding pro druhové ověření vzorků ryb. Další práce bude věnována vlivu homogenizace na proteomickou analýzu.

Vývoj proteomické metody jako nástroje v boji proti pašování ohrožených zvířecích druhů

Bc. Ivana Novotná (M2)

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

V současné době představuje nelegální obchod s ohroženými živočišnými druhy velký celospolečenský problém. Mnoho lidí je kvůli vidině výtěžku ochotno obětovat i vymření některých zvířecích druhů, avšak i ztráta jediného má drtivý dopad na celé ekosystémy. Aby tomu bylo zabráněno, je veškerý obchod s živočišnými druhy monitorován příslušnými úřady. V případě záchytu podezřelého materiálu je nutné zjistit, zda náleží chráněnému druhu. K tomuto účelu slouží řada různých metod, kdy nejpoužívanější je analýza DNA, avšak i ta má svá omezení, protože je nutné analyzovat materiál s dostatečným množstvím nedegradované DNA, což nemusí být vždy možné. Elegantním řešením tohoto nedostatku jsou relativně stálé proteiny, které tvoří značnou část živočišných těl. Tato práce se zabývá analýzou kožních derivátů devíti živočišných druhů (dikobraza, hroznýše, kočky, koně, krajty, mravenečníka, prasete, psa a užovky) pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF (matricí asistované laserové desorpce/ionizace ve spojení s analyzátozem doby letu). Touto metodou se podařilo získat charakteristické hodnoty m/z , které umožňují jednoznačně rozlišit jednotlivé živočišné druhy.

Vliv bezsérových médií na proteom a sekretom osteoblastických buněčných linií

Bc. Anna Sekyrová (M2)

Školitel: Ing. Jiří Šantrůček, Ph.D.

Bezsérová kultivace je prostředkem k odstranění variabilních vlivů při experimentech prováděných na buněčných liniích – především rozdílnosti šarží běžně přidávaného hovězího fetálního séra (FBS) a jeho nedefinovaného složení. Taktéž vede ke zkvalitnění následné proteomické analýzy, jelikož je eliminována kontaminace hovězími sérovými proteiny. Zároveň je ale pro experimenty zásadní zachování fyziologických podmínek pro buňky, aby v důsledku záměny kultivačního média nedocházelo k nechtěnému zkreslení výsledků. Cílem našich experimentů bylo sledovat pomocí LC-MS/MS analýzy kvalitativní i kvantitativní změny v proteomu a sekretomu dvou osteoblastických buněčných linií kultivovaných ve třech variantách bezsérových médií s různými přísadami oproti kontrole, která obsahuje v médiu standardních 10 % FBS. U buněčné linie Saos-2 se nejvíce lišil proteom buněk kultivovaných pouze v základním médiu DMEM/F-12, zatímco u linie hFOB 1.19 se nejvíce odlišoval proteom kontrolních buněk (médiu s 10 % FBS). Vzorky médií byly navíc precipitovány acetonem či přečištěny na reverzní fázi C4 ve snaze zvýšit počet identifikovaných lidských proteinů oproti vzorkům bez úpravy. Žádný z uvedených postupů ovšem ke zvýšení nevedl.

Proteomická analýza nerozpustných biologických vzorků metodou přímého štěpení trypsinem

Bc. Adéla Sukupová (M2)

Školitel: prof. Dr. Ing. Radovan Hynek

Proteomická analýza je obor zabývající se studiem proteomu s cílem získat podrobné informace o funkci, struktuře či vlastnostech biologických systémů. Tato technika se stává stále populárnější v klinické medicíně, kde se využívá ke studiu patologických stavů či k nalezení biomarkerů. Nejčastěji zkoumanými vzorky při těchto analýzách jsou takové, které mají rozpustný charakter a jsou snadno dostupné neinvazivním odběrem (krev, sérum, moč). Tato práce je však zaměřená na vzorky s nerozpustnou matricí, mezi něž patří například kosti nebo oční rohovka, která byla během těchto experimentů zkoumána, stejně jako vzorky benigních kostních výrůstků (osteomy a exostózy). Problém nerozpustných vzorků je ten, že jejich příprava pro proteomické zpracování je náročná a zdouhavá – proto využíváme metodu in-sample digestion, tedy metodu přímého štěpení trypsinem, která je založená na předpokladu, že molekuly trypsinu mají schopnost pronikat strukturou nerozpustné matrice a štěpit proteiny přímo uvnitř vzorku. Našimi experimenty se podařilo identifikovat přes 1000 proteinů ve zkoumaných vzorcích rohovky, 621 proteinů v osteomu a 532 celkových proteinů v exostózách. Cílem do budoucna je aplikovat tuto metodiku i na další nerozpustné vzorky a tím rozšířit možnosti využití v běžné klinické praxi.

Ústav sacharidů a cereálií (321)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Roman Bleha, Ph.D.

SEZNAM SEKČÍ

1. [Ústav sacharidů a cereálií](#)

Ústav sacharidů a cereálií

MÍSTO: B 40 KNIHOVNA ÚSTAVU

KOMISE

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

Ing. Pavel Skřivan, CSc.

doc. Mgr. Andrej Sinica, Ph.D.

prof. Ing. Zdeněk Bubník, CSc.

doc. Ing. Evžen Šárka, CSc.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Rastislav Korman](#) (M1, Ing. Roman Bleha, Ph.D.)

Izolácia a štruktúrna analýza polysacharidových frakcií z medicínálnych hub

09:20 [Bc. Julie Prokopová](#) (M2, doc. Ing. Marcela Sluková, Ph.D.)

Nutriční zhodnocení cereálních produktů s přidavkem luštěnin

09:40 [Bc. Daniel Růžička](#) (M2, Ing. Simona Gillarová, Ph.D.)

Kontinuální chromatografická izolace mannitolu

10:00 [Bc. Barbora Stýblová](#) (M2, Ing. Roman Bleha, Ph.D.)

Extrakce a charakterizace polysacharidů z žitných otrub

10:20 [Bc. Daniela Ulrichová](#) (M2, Ing. Vladimír Pour, CSc.)

Membránová filtrace cukerných šťáv

10:40 [Bc. Kristýna Klárová](#) (M2, Ing. Roman Bleha, Ph.D.)

*Izolace polysacharidových frakcí z plodnic hub *Hericium erinaceus* (kmen f 5242):
purifikace a strukturní analýza*

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - ÚSTAV SACHARIDŮ A CEREÁLÍ



NICOLET CZ
MOLECULAR SPECTROSCOPY



SHIMADZU

Excellence in Science



P-LAB



HELAGO

®



Izolácia a štruktúrna analýza polysacharidových frakcií z medicínálnych húb

Bc. Rastislav Korman (M1)

Školiteľ: Ing. Roman Bleha, Ph.D.

Cieľom práce bolo izolovať polysacharidy v doplnkoch stravy na báze húb a overiť analytické metódy pre ich detekciu. Teoretická časť bola zameraná na liečivé účinky a chemické zloženie polysacharidov z húb *Pleurotus*, *Chaga*, *Ganoderma* a *Hericium*. Boli predstavené nasledovné metódy analýz štruktúr polysacharidov: FTIR, Ramanova spektroskopia, GC/FID a NMR a HPLC. V experimentálnej časti boli vzorky doplnkov stravy prečistené a analyzované pomocou FTIR spektroskopie. Z vybraných prečistených vzoriek boli polysacharidy získané pomocou mikrovlnnej extrakcie a následne boli stanovené monosacharidy pomocou GC/FID.

Nutriční zhodnocení cereálních produktů s přidavkem luštěnin

Bc. Julie Prokopová (M2)

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

Luštěniny jsou ve výživě cenným zdrojem bílkovin a vlákniny. Předkládaný projekt se zabýval analýzou a posouzením základních složek luštěnin. Zaměřila jsem se na stanovení obsahu bílkovin a vlákniny v semenech čočky červené, semenech cizrny a v hladkých moukách vyrobených z těchto semen. U semen i mouk byly prokázány vysoké obsahy bílkovin (21,5-28,0 hm. % v suš.). V porovnání s údaji z různých literárních zdrojů, byly však opakovaně stanoveny velmi vysoké hodnoty obsahu vlákniny v celých semenech obou druhů luštěnin. Stanovený vysoký obsah vlákniny v luštěninách pravděpodobně neodpovídá reálnému obsahu vlákniny definované jako hůře využitelné složky stravy podle AACC. Metoda stanovení vlákniny (metodika AOAC 991.43) je určena zejména pro obilnou vlákninu. Stanovení složek vlákniny je založeno na enzymaticko-gravimetrickém postupu, kdy se využívá působení hydrolytických enzymů (termostabilní α -amylasa, amyloglukosidasa a proteasa) za daných podmínek. Poté následuje filtrace suspenze a srážení složek vlákniny 96% ethanolem. V dílčím kroku analýzy, enzymové reakce, se zřejmě projeví odlišnosti ve složení luštěnin a obilovin. Z tohoto důvodu bude třeba vypracovat modifikovaný postup stanovení vlákniny v luštěninách s detailním zaměřením na přítomné bílkoviny a polysacharidy.

Kontinuální chromatografická izolace mannitolu

Bc. Daniel Růžička (M2)

Školitel: Ing. Simona Gillarová, Ph.D.

Současná průmyslová výroba mannitolu vysokotlakou hydrogenací cukerného substrátu, zahrnující také krystalizaci, je energeticky náročná, a také poskytuje velmi nízký výtěžek. Velmi perspektivní alternativa ke konvenční výrobě může být využití superkritických kapalin k extrakci mannitolu z přírodních zdrojů. Z takového extraktu je možné izolovat mannitol pomocí preparativní chromatografie v diskontinuálním či kontinuálním zapojení. Náplní experimentální části práce bylo provedení diskontinuální separace mannitolu z roztoku, který svým složením modeloval extrakt sacharidů z řapíků celeru. Jednotlivé separace probíhaly na dvou kolonách odlišné geometrie se stejným silně bazickým aniontově-výměnným sorbentem Dowex Monosphere 550A (Dow, USA) za různých experimentálních podmínek. Získané frakce z jednotlivých diskontinuálních separací byly analyzovány kationtově-výměnnou chromatografií s refraktometrickou detekcí. Na základě dat z diskontinuálních experimentů byla provedena pomocí počítačové simulace v prostředí Aspen Chromatography™ kontinuální separace s výsledným obsahem mannitolu v sušině rafinátu 99,1 %. Dále byla provedena údržba kontinuálního chromatografického separátoru KCHS-SMB-8-ND v poloprovozním měřítku (VŠCHT Praha) pro účely navazující vlastní kontinuální separace.

Extrakce a charakterizace polysacharidů z žitných otrub

Bc. Barbora Stýblová (M2)

Školitel: Ing. Roman Bleha, Ph.D.

Cílem této práce bylo izolovat a určit složení polysacharidových frakcí získaných z žitných otrub se zaměřením na nutričně významné složky vlákniny. Byla stanovena celková, rozpustná a nerozpustná vláknina. Pro odstranění proteinů byla u studenovodných extraktů použita kombinace enzymů pepsinu a pronasy. Zatímco u horkovodných extraktů byl odstraněn škrob pomocí enzymů α -amylasy a pullulonasy. Posledním krokem byla alkalická extrakce 1 M NaOH, čímž byly získány ve vodě nerozpustné polysacharidy. Všechny polysacharidové frakce byly analyzovány z hlediska čistoty, chemického složení a struktury pomocí FTIR spektroskopie. Neutrální cukry byly stanoveny pomocí GC/FID a dále byla provedena methylační analýza na GC/MS.

Membránová filtrace cukerných šťáv

Bc. Daniela Ulrichová (M2)

Školitel: Ing. Vladimír Pour, CSc.

Energetická krize, která se v loňském roce citelně dotkla většiny výrobců potravin, vedla k intenzivnímu hledání jak snížit energetickou náročnost výrob. Jednou z energeticky nejnáročnějších výrob je právě výroba cukru. Nejvíce energií je spotřebováno při odpařování šťáv, dalším kritickým místem tradiční technologie je čištění cukerných šťáv od nečistot, při němž je produkováno velké množství vedlejších produktů. Řešením pro cukrovary tak může být zařazení membránové filtrace do výrobní technologie. Použití membránových metod umožňuje čištění a koncentraci roztoků bez zahřívání a odpařování. To s sebou přináší jak výrazné úspory energie, tak snížení množství odpadů a emisí a vyšší výtěžek při finální krystalizaci sacharózy. Tato práce je zaměřena na oblast čištění cukerných šťáv za využití membrán o různé selektivitě. Sledována je rychlost procesu, separační účinnost membrán a výkon filtrace. Výkon je klíčovým parametrem pro uplatnění v praxi a reflektuje zanášení membrány, k němuž při filtraci postupně dochází. V průběhu jednotlivých membránových filtrací jsou odebírány vzorky, které jsou podrobeny laboratorním analýzám. Sledovány jsou především změny v obsahu barevných látek, dále zastoupení vybraných iontů a organických kyselin v jednotlivých produktech separace.

*Izolace polysacharidových frakcí z plodnic hub *Heridium erinaceus* (kmen f 5242): purifikace a strukturní analýza*

Bc. Kristýna Klárová (M2)

Školitel: Ing. Roman Bleha, Ph.D.

Medicinální houby jsou tradičně využívány v asijských zemích již po tisíce let, a to především pro svůj obsah biologicky aktivních látek, přičemž zájem o ně v současné době vzrůstá i ve státech Evropy a s tím i spojený výzkum soustředěný právě na biologické aktivity přítomných sloučenin. Mezi takové sloučeniny se řadí například polysacharidy (α - a β -glukany), fenolové sloučeniny, glykoproteiny a plno dalších složek, které se nacházejí v plodnici i myceliu hub. Konkrétně polysacharidy jsou často diskutovanými bioaktivními složkami, mezi jejichž hlavní aktivity patří schopnost imonomodulace (související s protinádorovou, protizánětlivou a antimikrobiální aktivitou), dále se podílí na prevenci hypercholesterolémie či na antidepresivních účincích. V rámci této práce byly izolovány polysacharidové frakce z plodnice houby *Heridium erinaceus* (kmen f 5242) a následně strukturně charakterizovány. Izolace frakcí probíhala prostřednictvím extrakčních metod sestávajících z extrakce studenou vodou, horkou vodou a alkalickým roztokem. Získané frakce byly analyzovány pomocí FT-IR a GC/FID, pro zjištění obsahu funkčních skupin ve frakcích a přítomnosti neutrálních cukrů.

Ústav mléka, tuků a kosmetiky (322)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.

SEZNAM SEKCÍ

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

Chemie a technologie mléka, tuků a kosmetiky

MÍSTO: B02

KOMISE

doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D. (předseda)

doc. Ing. Šárka Horáčková, CSc.

doc. Ing. Jan Kyselka, Ph.D.

Ing. Anna Macůrková, Ph.D.

Ing. Markéta Berčíková, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Anastasiya Belkina Bc.](#) (M1, doc. Ing. Šárka Horáčková, CSc.)

Vliv vybraných oligosacharidů na růst probiotik a na růst nežádoucích mikroorganismů

09:20 [Bc. Veronika Jachimová](#) (M2, doc. Ing. Jan Kyselka, Ph.D.)

Vliv technologických a kulinárních úprav na jedlé oleje s vysokým obsahem skvalenu a sterolů

09:40 [Bc. Josefína Kousalová](#) (M2, Ing. Markéta Berčíková, Ph.D.)

Vliv olejové fáze na vlastnosti oleogelů

10:20 [Bc. Anna Kozáková](#) (M2, doc. Ing. Šárka Horáčková, CSc.)

Technologické a protektivní vlastnosti nezákysových bakterií mléčného kvašení

10:40 [Jan Vaňous](#) (M2, doc. Ing. Šárka Horáčková, CSc.)

Mikrobiální kultury pro bioprezervaci potravin

11:00 [Bc. Júlia Vicenová](#) (M2, Ing. Anna Macůrková, Ph.D.)

Príprava galakto-oligosacharidov za využitia β -galaktozidázy

11:20 [Bc. Monika Šupolíková](#) (M1, doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.)

Fyzikální stabilita kosmetických emulzí

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - CHEMIE A TECHNOLOGIE MLÉKA, TUKŮ A KOSMETIKY



Baking a
better world
together



La Lorraine
BAKERY GROUP

Vliv vybraných oligosacharidů na růst probiotik a na růst nežádoucích mikroorganismů

Anastasiya Belkina Bc. (M1)

Školitel: doc. Ing. Šárka Horáčková, CSc.

Cílem práce bylo porovnat vliv oligosacharidů na růst vybraných probiotických a nežádoucích mikroorganismů. Růstové charakteristiky byly hodnoceny měřením růstové křivky (růstová rychlost, lag fáze), stanovením počtu buněk a měřením pH v médiích bez přídavku sacharidů a v médiích s přídavkem glukosy, inulinu, fruktooligosacharidů s krátkým řetězcem nebo oligofruktosy. Probiotické kmeny *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 a *Lactobacillus paracasei* Lafti L-26 využívaly všechny sacharidy, nebyl nalezen rozdíl mezi kultivací v minimálním API médiu s glukosou a v médiích s oligosacharidy. Po 24 h se pH médií snížilo na 3,4 – 3,6. Utilizace jednotlivých oligosacharidů v API médiu s přídavkem fruktooligosacharidů s krátkým řetězcem byla potvrzena také metodou HPLC. Z naměřených růstových křivek byl potvrzen narůst podmíněně patogenních kmenů *Escherichia coli* CCM 4517 a *Bacillus cereus* CNCTC-6204 v minimálním médiu s fruktooligosacharidy, ale je pravděpodobné, že mikroorganismy využívali monosacharidy přítomné v preparátech sacharidů, jejichž přítomnost byla rovněž potvrzena metodou HPLC.

Vliv technologických a kulinárních úprav na jedlé oleje s vysokým obsahem skvalenu a sterolů

Bc. Veronika Jachimová (M2)

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

Mezi komerčně významné komodity s vysokým obsahem skvalenu řadíme panenský olivový olej a oleje z jednobuněčných organismů (Single Cell Oils) jako jsou kvasinky. Uvedené oleje lze šetrně rafinovat, současně se ovšem využívají pro kulinární účely. Za vysokých teplot dochází k degradaci triacylglycerolů a také složek nezmýdelnitelného podílu. Byly zkoumány změny skvalenu a sterolů při kulinárních úpravách jedlých olejů. Byla provedena syntéza vybraných degradačních produktů skvalenu, zejména příslušných epoxy derivátů. Provedením simulovaného smažení bylo možné pozorovat vznik žádoucího skvalanu a kampestanolu společně s potenciálně škodlivými degradačními produkty.

Vliv olejové fáze na vlastnosti oleogelů

Bc. Josefína Kousalová (M2)

Školitel: Ing. Markéta Berčíková, Ph.D.

Oleogely jsou gely složené z oleje s přidavkem malého množství látky, která oleji dodává polotuhou strukturu. Tyto látky nazýváme strukturanty. Potenciální využití oleogelů je v současné době zejména v kosmetickém a farmaceutickém průmyslu. Pro účely této práce byly připraveny oleogely ze šesti olejů o různém zastoupení mastných kyselin. Jako strukturant byla použita kyselina 12-hydroxystearová. Vlastnosti připravených oleogelů byly porovnány prostřednictvím zádrže oleje. Hodnota minimální gelační koncentrace strukturantu byla stejná pro všechny stanovované oleje s výjimkou ricinového oleje, pro který byla pro vznik oleogelu nutná vyšší koncentrace. Důvodem by mohl být vysoký obsah kyseliny ricinolejové, která se v jiných olejích kromě ricinového nevyskytuje. Nejvyšší zádrže oleje bylo dosaženo u mandlového a rybího oleje. Pro prozkoumání chování oleogelů v komplexním systému byly připraveny kosmetické emulze typu v/o s přidavkem kyseliny 12-hydroxystearové do olejové fáze. Reologické vlastnosti připravených emulzí byly zkoumány pomocí rotačního reometru. Emulze, která oproti původní receptuře obsahovala snížené množství emulgátoru a kyselinu 12-hydroxystearovou, dosahovala srovnatelných hodnot meze toku jako emulze připravená podle původní receptury.

Technologické a protektivní vlastnosti nezákysových bakterií mléčného kvašení

Bc. Anna Kozáková (M2)

Školitel: doc. Ing. Šárka Horáčková, CSc.

Nezákysové bakterie mléčného kvašení označované též jako NSLAB mohou být dominující mikroflórou, která zajišťuje kvalitu a bezpečnost zrajících sýrů. Patří mezi ně hlavně rody *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* a heterofermentativní druhy rodu *Lactobacillus*. V práci byly provedeny mikrobiální rozborů pět druhů polotvrdých sýrů s využitím různě selektivních kultivačních médií (agar s kanamycinem a žlučovými solemi, Rogosa agar, M17 agar a MRS agar s přídavkem vankomycinu, klindamycinu nebo ampicilinu) s cílem porovnat diverzitu těchto sýrů a dále izolovat některé kmeny fakultativně heterofermentativních laktobacilů. Nejvíce se lišil italský sýr Prafiorito plus, u kterého proběhl výrazný nárůst na půdě se všemi antibiotiky, na rozdíl od ostatních sýrů, kde nárůst proběhl pouze na půdě s přídavkem vankomycinu. Vybrané izoláty byly dále testovány na proteolytickou aktivitu na médiu TGYE agar s mlékem. U dvou izolátů byly pro bližší identifikaci použity API fermentační testy, z jejichž výsledků můžeme určit, že se u obou jedná o druh *Lactobacillus curvatus*.

Mikrobiální kultury pro bioprezervaci potravin

Jan Vaňous (M2)

Školitel: doc. Ing. Šárka Horáčková, CSc.

Náplní této práce bylo zhodnocení antimikrobiální aktivity protektivní kultury *Lactocaseibacillus rhamnosus* FreshQ Cheese 11 (Chr. Hansen) a potenciálních protektivních kultur *Lactiplantibacillus plantarum* CCDM 181, *L. plantarum* CCDM 3050 a *Limosilactobacillus fermentum* CCDM 3051. Konkrétně byla určena inhibiční schopnost *L. rhamnosus* a obou kmenů *L. plantarum* vůči vybraným kvasinkám na MEA/MRS agarrech, plísním na povrchu jogurtu a inhibiční schopnost *L. plantarum* CCDM 3050 a *L. fermentum* vůči vybraným plísním na střídě chleba, do kterého byly tyto kultury přidány před jeho upečením ve formě kvasů. Antimikrobiální aktivita se ve všech případech ukázala jako kmenově a v případě chleba i substrátově specifická – trend růstu plísní na pohankovém chlebu se výrazně lišil od toho na pšeničném. Kvasinky byly nejlépe inhibovány *L. plantarum*, kdy oba kmeny vykazaly inhibiční aktivitu vůči 11 z 16 testovaných kvasinek, *L. rhamnosus* pouze vůči 4 z 16. Plísně na jogurtu byly nejsilněji inhibovány kmenem *L. plantarum* CCDM 3050 – docházelo k největšímu zpoždění nárůstu plísně i k nejvýraznějšímu zmenšení průměrné velikosti narostlé kolonie oproti kontrole. Všechny produkty, vyrobené s přidavkem výše zmíněných bakteriálních kultur, měly přijatelné senzorické vlastnosti.

Príprava galakto-oligosacharidov za využitia β -galaktozidázy

Bc. Júlia Vicenová (M2)

Školiteľ: Ing. Anna Macůrková, Ph.D.

Galaktooligosacharidy sú látky, ktoré sú používané ako prebiotiká. Pre človeka sú nestráviteľné ale podporujú rast probiotických baktérií ako sú bifidobaktérie a laktobacily. Účinky prebiotík boli preukázané nielen pri ochoreniach gastrointestinálneho traktu, ale majú pozitívny vplyv na fungovanie nervového, imunitného či kardiovaskulárneho systému. Cieľom tejto práce bola príprava oligosacharidov s fukózou reakciou, ktorá bola katalyzovaná enzýmom β -galaktosidázou. Ako substrát enzýmovej reakcie bola použitá laktóza, prípadne zmes laktózy s fukózou a bol sledovaný vplyv zmeny pH v reakčnej zmesi na výťažok oligosacharidov. Priebeh enzýmovej reakcie bol sledovaný v určitých časových intervaloch. Produkty reakcie boli analyzované pomocou HPLC s ELS detektorom na kolóne Hypercarb. Pri porovnaní chromatogramov produktov reakcie s čistou laktózou a zmesi laktózy a fukózy boli v chromatograme produktov zo zmesi laktózy a fukózy identifikované unikátne píky, ktoré by mohli indikovať prítomnosť oligosacharidov obsahujúcich fukózu. Ďalej bolo zistené, že prídavok fukózy zvyšuje výslednú koncentráciu oligosacharidov. Vplyv zmien pH reakčnej zmesi sa prejavil v celkovom množstve reakčných produktoch a zároveň aj v množstve jednotlivých produktoch.

Fyzikální stabilita kosmetických emulzí

Bc. Monika Šupolíková (M1)

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

Tato práce se zabývá fyzikální stabilitou kosmetických emulzí. Mezi hlavní faktory stability patří teplota skladování, množství a struktura emulgátoru, polarita a molekulová hmotnost emolientu a přítomnost gelotvorné látky. Celkem bylo připraveno 15 emulzí o různém složení. K charakterizaci těchto emulzí byly zvoleny metody mikroskopického stanovení distribuce velikosti částic a měření na přístroji LUMiSizer. Tyto metody využívají předpokladu, že velikost částic v emulzi je základním ukazatelem její stability. Bylo zjištěno, že pro tvorbu nejstabilnějších emulzí je potřeba vyšší koncentrace emulgátorů, nepochybně emolient a přítomnost gelotvorné látky. Při mikroskopickém stanovení byly určeny jako stabilnější vzorky s obsahem ethoxylovaných mastných alkoholů jako emulgátorů, při měření na přístroji LUMiSizer však byly stabilnější vzorky s acylglyceroly jako emulgátory a s obsahem gelotvorné látky. Vzorek s acylglyceroly, který neobsahoval gelotvornou látku, byl vysoce nestabilní. Nebyla zjištěna souvislost mezi molekulovou hmotností emolientu a stabilitou emulzí.

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](#)

Sekce 1

MÍSTO: B159

KOMISE

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

Ing. Zbyněk Džuman, Ph.D.

Ing. Vojtech Ilko, Ph.D.

PROGRAM

zahájení

09:00 [Bc. Eliška Růčková](#) (M1, prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.)

Charakterizace bioaktivních látek ve vybraných bylinných extraktech

09:20 [Bc. Lucie Stará](#) (M1, Ing. Beverly Hradecká, Ph.D.)

Hodnocení obsahu akrylamidu v pivech dostupných na českém trhu

09:40 [Bc. Martina Šimková](#) (M1, Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.)

Studium aditivních látek plastů používaných v zemědělství: pilotní výsledky z analýzy půdy

10:00 [Bc. Vít Tobiška](#) (M2, doc. Dr. Ing. Karel Cejpek)

Vznik α -dikarbonylových sloučenin z oligosacharidů ve vodném a bezvodém prostředí

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

Aplikace ATR-FTIR v analýze ovocných džemů

10:40 [Bc. Matěj Uhlíř](#) (M2, prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.)

Potraviny na bázi konopí: kritické zhodnocení kvality a bezpečnosti.

11:00 [Bc. Jiří Vavřinec](#) (M2, Ing. Michal Stupák, Ph.D.)

Optimalizace metody GC-MS/MS pro stanovení ethylen oxidu v potravinách

11:20 [Bc. Karel Wünsche](#) (M1, Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.)

Využití strategie necílené analýzy pro ověření autenticity šafránu

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - SEKCE 1



Charakterizace bioaktivních látek ve vybraných bylinných extraktech

Bc. Eliška Růčková (M1)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Řada bylin je využívána pro léčebné účely již po staletí a probíhající výzkum postupně rozšiřuje poznatky o obsažených sekundárních metabolitech i jejich léčebném potenciálu. Významnou skupinou bioaktivních sloučenin, na jejichž charakterizaci se zaměřil tento projekt, jsou rostlinné polyfenoly. Předmětem studia byly hojně využívané „léčivé“ byliny pelyněk pravý, máta peprná a kosatec sibiřský. Ethanolické extrakty byly připraveny a dodány průmyslovým partnerem. K analýze sloučenin obsažených v těchto extraktech byla použita technika UHPLC-HRMS/MS. Zaznamenaná primární data byla vyšetřena pomocí cílového screeningu bioaktivních látek. Pro tento účel byla vytvořena „in-house“ spektrální databáze zahrnující mj. 110 polyfenolických sloučenin, jejichž přítomnost v bylinách byla zmiňována v různých vědeckých publikacích. V analyzovaných extraktech byla potvrzena přítomnost celkem 28 různých sekundárních metabolitů z databáze, z nichž většina (53 %) patřila do skupiny flavonoidů. Nejvyšší počet identifikovaných látek (22) obsahoval extrakt máty peprné, naproti tomu extrakt kosatce sibiřského obsahoval nejnižší počet identifikovaných látek (8). V navazujících studiích budou analyzovány a charakterizovány bioaktivní látky dalších bylinných extraktů a také měřena jejich bioaktivita.

Hodnocení obsahu akrylamidu v pivech dostupných na českém trhu

Bc. Lucie Stará (M1)

Školitel: Ing. Beverly Hradecká, Ph.D.

„Tekutý chléb“ je frazém pro český národní nápoj, pivo. K jeho výrobě se používá chmel, slad, voda a pivovarské kvasinky. Na oblíbenost tohoto nápoje mezi Čechy poukazuje jeho produkce (21,6 mil. hL) v roce 2019 a v roce 2021 byla průměrná spotřeba na jednoho obyvatele ČR odhadnuta na 129 L. I přes nespornou oblibu tohoto nápoje je zapotřebí zhodnotit kvalitu piva z pohledu procesního kontaminantu akrylamidu (pravděpodobný lidský karcinogen skupiny 2A), který vzniká v průběhu výroby sladu, konkrétně během hvozdní. Ten se z takto upraveného sladu extrahuje do finálního produktu. V současné době neexistuje a není zatím uvažováno o zavedení porovnávací hodnoty pro obsah akrylamidu v pivu. Navíc je nedostatek informací o dietární a hraniční expozici (MoE) akrylamidu. S tímto ohledem bylo cílem provést průzkum obsahu akrylamidu ve 101 vzorcích piv dostupných na českém trhu. Vzorky byly analyzovány v rámci akreditované metody pomocí ultraúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (U-HPLC-MS/MS). Obsah akrylamidu byl kvantifikován v každém druhém pivě, a to v rozmezí 1,4–50 µg/L (LOQ = 1 µg/L). Z výsledků MoE vyplývá, že v případě průměrné konzumace piva (0,36 L/den) představuje již 1,4 µg přítomného akrylamidu zdravotní riziko.

Studium aditivních látek plastů používaných v zemědělství: pilotní výsledky z analýzy půdy

Bc. Martina Šimková (M1)

Školitel: Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.

Používání zemědělských plastů má řadu výhod, např. vyšší úroda, dřívější sklizeň a efektivnější využití vody. Nakládání s odpadními plasty může být spojeno s nežádoucími praktikami jako je jejich zaorávání do půdy, což snižuje kvalitu půdy a zvyšuje riziko kontaminace potravního řetězce řadou chemikálií včetně aditiv, které se při výrobě polymerů používají a polymer chrání před foto-, tepelnou a chemickou degradací. Cílem studie bylo vyvinout a validovat metody pro stanovení pestrého spektra aditiv plastů v půdě, kdy byly testovány dva postupy (ultrasonikace s hexanem nebo směsí voda:methanol (80:20, v/v); ultrasonikace s ethylacetátem s následným vysolením po přidávku anorganických solí). Instrumentální analýza byla provedena pomocí ultra vysokoúčinné kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Po validaci metod pro 15 analytů (výtěžnost 51-120 %, opakovatelnost <20 %, limity kvantifikace 0,2-20 ng/g) byl vyšetřen soubor 50 vzorků půd polní experimentu, jež byl realizován v rámci evropského projektu PAPILLONS. Byla zjištěna přítomnost pěti aditiv (0,2-284 ng/g sušiny). Získané výsledky přinášejí důležité poznatky o osudu plastových aditiv v půdě a vyvinuté metody budou použity pro vyšetření dalších sérií vzorků půd získaných od partnerů projektu.

Vznik α -dikarboxylových sloučenin z oligosacharidů ve vodném a bezvodém prostředí

Bc. Vít Tobiška (M2)

Školitel: doc. Dr. Ing. Karel Cejpek

α -dikarboxylové sloučeniny jsou primárními nebo sekundárními reaktivními meziprodukty transformace mono- a oligosacharidů za podmínek karamelizace a Maillardovy reakce. Detekovány jsou ve formě chinoxalinových derivátů po derivatizaci *o*-fenylendiaminem. Vznik α -dikarboxylových sloučenin byl takto sledován metodou HPLC s detektorem fotodiodového pole, a to v modelových reakčních systémech běžných oligosacharidů s (1 $\rightarrow$ 4)-glykosidovou vazbou. Modelové reakční směsi byly připraveny formou časové řady, když byly zahřívány v uzavřených systémech za konstantní teploty. Analyzovány byly modelové systémy jak karamelizace (tzn. bez zdroje aminoskupiny), tak Maillardovy reakce (přidána γ -aminomáselná kyselina) v podobě jak vodných roztoků, tak bezvodých reakčních směsí (tzv. *Quasi Water-Free* prostředí). Z důvodu studia reakčních mechanismů bylo derivatizační činidlo alternativně přidáváno buďto přímo do reakční směsi ještě před zahřevem, což umožnilo zachycení primárních α -dikarboxylových sloučenin *in statu nascendi*, nebo do zreagovaného modelového systému až před samotnou HPLC analýzou. Zjištěné množství, zastoupení a kinetika vzniku jednotlivých α -dikarboxylových sloučenin včetně těch typických pro oligosacharidy byly následně porovnávány se systémy relevantních monosacharidů.

Aplikace ATR-FTIR v analýze ovocných džemů

Bc. František Tomiška (M2)

Školitel: prof. Dr. Ing. Jan Poustka

Infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací za využití techniky zeslabené totální reflektance (ATR-FTIR) je rychlá metoda vyžadující minimální úpravu vzorku, která je použitelná především pro analýzu homogenních vzorků, např. kapalného nebo pastovitého charakteru. V praxi je technika infračervené spektrometrie v analýze potravin používána pro rychlé získání komplexních informací o daném materiálu, například za účelem odhalení falšování. Výsledkem měření jsou profilová spektra, která jsou často zpracovávána automatizovanými matematicko-statistickými algoritmy, které jsou nastaveny tak, aby na základě získaných vědomostí o změnách spektra v závislosti na složení analyzovaného materiálu porovnávaly požadované parametry. V rámci této práce byla zkoumána použitelnost infračervené spektrometrie v analýze džemů a dalších ovocných pomazánek, které bývají předmětem falšování. Využity byly malinové džemy z domácí produkce a také výrobky dostupné v běžné maloobchodní síti. Hlavním sledovaným parametrem byl obsah sacharidů. Kromě metody ATR-FTIR byla pro charakterizaci vzorků také využita metoda HPLC-ELSD pro stanovení cukrů a také byla refraktometricky stanovena sušina.

Potraviny na bázi konopí: kritické zhodnocení kvality a bezpečnosti.

Bc. Matěj Uhlíř (M2)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Konopí (*Cannabis sativa* L.) představuje všestranně využitelnou rostlinu, která získává stále větší popularitu v potravinářství, zejména díky konopným semenům a produktům z nich. Mezi tyto produkty patří za studena lisovaný konopný olej, bohatý na polynenasycené a nenasycené mastné kyseliny. Kromě těchto látek se v konopných potravinách vyskytují i sekundární metabolity, zvané fytoKANABINOIDY. Mezi nejvýznamnější zástupce fytoKANABINOIDŮ patří KANABIDIOL (CBD), a jeho izomer Δ^9 -tetrahydroKANABINOL (Δ^9 -THC), který má psychotropní účinky. Vzhledem k potencionálním nežádoucím účinkům Δ^9 -THC nařídila Evropská komise v roce 2022 ((EU) 2022/1393) maximální limity pro sumu Δ^9 -THC a Δ^9 -THCA v některých konopných potravinách. Cílem této práce bylo stanovení fytoKANABINOIDŮ ve vzorcích konopných semen a olejů, které byly podrobeny analýze před a po vydání nařízení Evropské komise a porovnat je s limity stanovenými v uvedeném nařízení. Analýza byla provedena metodou ultraúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (UHPLC-HRMS/MS). Dále bylo ověřeno, že konopné oleje odpovídají svým profilům mastných kyselin což mělo odhalit možné falšování. Tento krok byl proveden pomocí plynové chromatografie a plamenově ionizačního detektoru (GC-FID).

Optimalizace metody GC-MS/MS pro stanovení ethylen oxidu v potravinách

Bc. Jiří Vavřinec (M2)

Školitel: Ing. Michal Stupák, Ph.D.

Ethylen oxid je toxická látka s prokázanými karcinogenními a mutagenními vlastnostmi, jehož výskyt v potravinách je v mnoha zemích světa regulován. V zemích EU začal být výskyt ethylen oxidu regulován v roce 1991 a od roku 2012 je jeho použití v potravinářství zakázáno. Po nálezů nadlimitního množství ethylen oxidu v mnoha sezamových semínkách ve druhé polovině roku 2020 byla zvýšena pozornost na jeho výskyt, což vedlo k četným hlášením v RASFF, kde bylo od roku 2020 oznámeno 923 potravin s vyšším obsahem ethylen oxidu převážně v bylinkách, koření nebo doplňcích stravy. S ohledem na extrémně nízké limity pro ethylen oxid (EtO) a jeho degradační produkt 2-chloroethanol (2CE) je zapotřebí citlivá, selektivní a samozřejmě finančně nenáročná metoda, která musí být využita pro kontrolu potravin na výše zmíněné kontaminanty. S ohledem na nízký bod varu EtO a jeho vysoké reaktibilitě bylo nutné optimalizovat extrakční a instrumentální metodu založenou na konverzi EtO na degradační produkt (případně produkty) a jejich stanovení pomocí techniky plynové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Tato analytická metoda byla využita pro kontrolu reálných vzorků potravin a různých doplňků stravy.

Využití strategie necílené analýzy pro ověření authenticity šafránu

Bc. Karel Wünsche (M1)

Školitel: Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.

Cílem práce bylo rozšíření metody pro autentikaci šafránu zařazením nových možných adulterantů, respektive přidáním jejich markerů do stávající databáze. Jednalo se o další 4 adulteranty, a to o komuli, gardénii jasmínovitou, kukuřici setou a křídlok santalový. K účelu analýzy byla využita kapalinová chromatografie s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií. Pozornost byla zaměřena na vyšetření extraktů ethanol:voda (7:3, v/v) 31 vzorků blizen šafránu setého, 5 vzorků dřeva křídloku santalového, 1 vzorku blizen kukuřice seté, květu komule a plodu gardénie jasmínovité. Vzorky šafránu byly záměrně falšovány 1, 3, 5 a 10% hm. přídavky adulterantu a analyzovány týmž postupem. Výsledná data byla zpracována pokročilými statistickými metodami, díky nimž byly nalezeny markery adulterantů i šafránu. Celkem byly vytipovány 3 markery komule, 5 markerů gardénie jasmínovité, 4 markery kukuřice seté a 4 markery křídloku santalového. Cílovým screeningem markerů lze detekovat 3% hm. přídavky zkoumaných adulterantů. Kromě toho byly nalezeny další 3 markery šafránu, z nichž jeden byl označen za safranal. Metoda byla aplikována na 7 vzorků mletého šafránu zakoupených na českém trhu, přičemž ve všech těchto vzorcích byly detekovány markery šafránu a v žádném nebyly nalezeny markery adulterantů.

Sekce 2

MÍSTO: B 31

KOMISE

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

doc. Dr. Ing. Karel Cejpek

Ing. Beverly Hradecká, Ph.D.

PROGRAM

zahájení

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

Studium bioaktivních metabolitů v léčivých rostlinách

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

Štúdium degradácie ópiových alkaloidov tepelnou záťažou

09:40 [Bc. Kateřina Pulgretová](#) (M2, prof. Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D.)

Využití silikonových náramků pro hodnocení expozice člověka kontaminantům z prostředí

10:00 [Bc. Lucie Rajmicová](#) (M2, doc. Dr. Ing. Marek Doležal)

Nutriční a senzorická hodnota alternativ mléčných kysaných výrobků

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

Monitoring pyrrolizidinových alkaloidů v českých medech

10:40 [Natálie Ručková](#) (B3, prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.)

Autentikace šalotky pomocí chemického otisku

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

Využití metabolomiky pro autentikaci jedlého hmyzu

11:20 [Bc. Anna Šimánková](#) (M2, prof. Dr. Ing. Richard Koplík)

Optimalizace měření mědi a zinku plamenovou AAS

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - SEKCE 2



Studium bioaktivních metabolitů v léčivých rostlinách

Bc. Linda Průšová (M2)

Školitel: Ing. Vít Kosek, Ph.D.

Adipocyty jsou důležitou součástí energetického metabolismu. Ten může být narušen v případě jejich poškození vlivem hypoxie, tedy jejich nedostatečné saturaci kyslíkem, která je důsledkem syndromu obstrukční spánkové apnoe (OSA). Tento syndrom charakterizuje opakovaná blokáce horních cest dýchacích během spánku. V reakci na hypoxii dochází k poruše metabolické funkce a nadměrné lipolýze v adipocytech, což způsobuje nadměrnou produkci volných mastných kyselin, a to je spojeno s insulinovou rezistencí a hyperlipidemií. Cílem této práce je identifikace nových bioaktivních sloučenin se silným antilipolytickým účinkem, které by mohly být využity k léčbě spánkové apnoe, a to konkrétně látky vyskytující se v korkovníku čínském, (*Phelladendron chinensis*), pelyňku metlatém (*Artemisia scoparia*) a ženšenu pravém (*Panax ginseng*). Experimentální část práce byla věnována optimalizaci metody pro frakcionaci vodných, methanolových a dichlormethanových extraktů všech bylin pomocí metody preparativní kapalinové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií. Ve vybraných frakcích byla stanovena jejich antilipolytická aktivita metodou GC-MS. Nejzajímavější frakce byly dále frakcionovány a budou využity pro kultivaci adipocytů.

Štúdium degradácie ópiových alkaloidov tepelnou záťažou

Bc. Monika Pšenáková (M2)

Školiteľ: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Rastlina maku siateho (*Papaver somniferum* L.) prirodzene obsahuje ópiové alkaloidy. Ide o biologicky aktívne dusíkaté heterocyklické látky syntetizované rastlinou ako sekundárne metabolity. Nariadenie Komisie EÚ 2021/2142 stanovuje maximálne limity OA vo forme tzv. morfínového ekvivalentu na 20 mg · kg⁻¹ pre makové semená a 1,5 mg · kg⁻¹ pre pekárske výrobky s obsahom maku. Odborná literatúra naznačuje, že vplyvom tepelnej námahy dochádza k výraznému zníženiu obsahu prítomných OA, avšak presná hodnota nie je známa. To vedie k potrebe určiť dominantné faktory degradácie OA a identifikovať degradačné produkty. Cieľom tejto práce bolo stanoviť vplyv tepelnej záťaže na ópiové alkaloidy. Degradácia ópiových alkaloidov bola skúmaná na vysoko alkaloidových makoch a na makovine. Monitorovaný bol vplyv viacerých teplôt v súvislosti s rôznym prostredím degradácie a časom pôsobenia tepelnej záťaže. Na separáciu a detekciu OA bola využitá metóda vysoko účinnej kvapalinovej chromatografie v spojení s vysokorozlišovacou hmotnostnou spektrometriou (U-HPLC-HRMS). Sledovaných bolo sedem OA (morfín, kodeín, tebaín, oripavín, laudanozín, noskapín, papaverín). Došlo k potvrdeniu výraznej degradácie v bezvodom prostredí pri vysokých teplotách a boli navrhnuté niektoré potenciálne degradačné produkty.

Využití silikonových náramků pro hodnocení expozice člověka kontaminantům z prostředí

Bc. Kateřina Pulgretová (M2)

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

Silikonové náramky zaznamenaly v posledních letech nárůst popularity kvůli svému snadnému a neinvazivnímu způsobu použití. Lze je využít jako pasivní osobní vzorkovače ke zjištění expozice člověka široké škále organických chemických látek, např. polycyklickým aromatickým uhlovodíkům (PAU). PAU jsou všudypřítomné polutanty, které vznikají především při nedokonalém spalování organické hmoty a mohou mít karcinogenní a mutagenní účinek na lidský organismus. Tato práce představí výsledky studie zhodnocení týdenní expozice PAU z ovzduší s využitím silikonových náramků, které nosilo 14 osob. Na základě testovaných metod pro izolaci PAU byl vybrán výsledný postup, který zahrnuje *i)* přípravu silikonových náramků před procesem vzorkování promytím náramku 3x2 h směsí etylacetát:hexan (1:1, v/v) na třepačce a *ii)* izolaci PAU z použitých náramků směsí hexan:dichlormetan (1:1, v/v) s využitím extrakce podpořené ultrazvukem po dobu 3x30 min. Použitou instrumentální technikou je plynová chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (GC-MS/MS). Zvolený postup byl pro 24 zástupců PAU validován na koncentrační hladině 10 ng/g náramku (n = 6).

Nutriční a senzorická hodnota alternativ mléčných kysaných výrobků

Bc. Lucie Rajmicová (M2)

Školitel: doc. Dr. Ing. Marek Doležal

Kysané mléčné výrobky, zejména jogurty, představují důležitou součást jídelníčku lidí po celém světě napříč kulturami. Oblíbené jsou pro své chuťové a nutriční vlastnosti, dále jako zdroj probiotik. Se zvyšující se popularitou alternativních stravovacích směrů a současným rozšiřováním sortimentu rostlinných potravin se rychle zvětšuje také nabídka alternativ mléčných kysaných výrobků. Konzumenti je z různých důvodů (ekologické, etické, zdravotní a další) stále častěji vyhledávají a očekávají vlastnosti podobné výrobkům z kravského mléka. Tyto alternativy jsou nejčastěji na bázi soji, kokosu či ovesa, obsahují jogurtové kultury a na trhu jsou dostupné ochucené i neochucené varianty. Cílem našeho monitoringu bylo zjistit obsah důležitých živin a zhodnotit přínosy či rizika konzumace profesionálně vyrobených alternativ. Na souboru 19 vzorků – 8 alternativ neochucených a 11 alternativ ochucených kysaných výrobků – byl porovnán stanovený obsah tuku s hodnotou deklarovanou výrobcem na obale a provedena analýza zastoupení mastných kyselin. Organoleptické vlastnosti vzorků byly posuzovány v senzorické laboratoři, která je vybavena podle příslušné mezinárodní normy ISO 8589. K hodnocení metodou senzorického profilu byly použity nestrukturované intenzitní a hédonické stobodové stupnice.

Monitoring pyrrolizidinových alkaloidů v českých medech

Bc. Ondřej Rubáš (M2)

Školitel: Ing. Zbyněk Džuman, Ph.D.

Pyrrolizidinové alkaloidy jsou heterocyklické sloučeniny odvozené od pyrrolizidinu. Jde o přírodní toxické látky produkovány jakožto sekundární metabolity některými dvouděložnými rostlinami především čeledi *Boraginaceae* či *Asteraceae*. Kontaminace se vyskytuje u potravinových komodit, jako jsou bylinné čaje, koření a potravinové doplňky většinou přimísením plevelů při sklizni, v menší míře asimilace kořenovými systémy. Do medu se pak pyrrolizidinové alkaloidy dostávají z pylu a nektaru přeneseným včelstvem. Medy se rozlišují na medovicové a květové, popř. smíšené a jelikož květové medy pochází z nektaru z dvouděložných rostlin, pyrrolizidinové alkaloidy se zde mohou objevovat. V rámci této práce byla sledována přítomnost pyrrolizidinových alkaloidů v 98 vzorcích českých autentických medů poskytnutých Výzkumným ústavem včelařským pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-MS/MS). Ve vyšetřovaných vzorcích byla zjištěna nízká incidence 6 pyrrolizidinových alkaloidů o koncentracích v jednotkách či desítkách $\mu\text{g/kg}$.

Autentikace šalotky pomocí chemického otisku

Natálie Ručková (B3)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Cibule šalotka (*Allium cepa* var. *aggregatum*) je poddruh cibule kuchyňské (*Allium cepa*). Jde o rostliny patřící do rodu *Allium*, jejichž vlastnosti, včetně vzhledu, jsou dost podobné, nicméně šalotka má podstatně jemnější chuť (typickým znakem je také tvorba většího množství cibulek tvořících trs). S ohledem na žádoucí senzorické vlastnosti je cena cibule šalotky významně vyšší než cibule kuchyňské, což bohužel vede k účelnému klamání spotřebitele, kdy je levnější vzhledově podobná komodita prezentována jako ta dražší. Cílem této práce je navrhnout vhodnou metodu pro autentikaci cibule šalotky s využitím metabolomické analýzy realizované s využitím ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-HRMS/MS). V prvním kroku byla optimalizována extrakční metoda a chromatografická separace s cílem získat analytické signály co nejvyššího počtu metabolitů. Vyvinutá metoda byla aplikována na soubory autentických vzorků cibule kuchyňské a cibule šalotky, jejichž dodání zajistila Státní zemědělská a potravinářská inspekce (SZPI). Následující krok představuje statistická analýza dat se záměrem určit látky charakteristické pro danou plodinu, takzvané markery, které umožní laboratorním dozorovým orgánům odlišit zmíněné komodity.

Využití metabolomiky pro autentikaci jedlého hmyzu

Bc. Kateřina Sonntag (M2)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Jednou z nových potravin, které si získávají stále větší pozornost, je jedlý hmyz. Jedná se o surovinu, která se obecně pojí s nedůvěrou spotřebitelů a její cena je poměrně vysoká. Potraviny s deklarovaným přídavkem hmyzu jsou obvykle vysoce zpracované a vizuální kontrola autenticity není možná. Vývoj metodiky schopné ověřit druh přidaného hmyzu je proto důležitý pro zabránění případnému falšování. Podstatou této práce byla aplikace metabolomické strategie s využitím ultra-vysokoúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostní spektrometrií (U-HPLC-HRMS/MS) na autentické vzorky různých druhů hmyzu. Data byla zkoumána metodami vícerozměrné statistické analýzy. Vzorky v sestavených modelech vykazovaly tendenci ke shlukování dle druhu nebo způsobu usmrcení. Na jejich základě byly vytipovány markery odlišující jednotlivé druhy nebo způsob usmrcení. Vzorky v dospělém stadiu vývoje charakterizoval například marker anotovaný jako dopamin-3-O-sulfát a pro vzorky sarančat byly charakteristické glykosidy flavonoidů. Nalezené markery byly použity pro tvorbu vlastní databáze, která byla aplikována pro cílový screening v nových vzorcích. Aplikace metabolomického přístupu se tedy ukázala jako vhodná technika pro autentikaci druhů hmyzu.

Optimalizace měření mědi a zinku plamenovou AAS

Bc. Anna Šimánková (M2)

Školitel: prof. Dr. Ing. Richard Koplík

Pro stanovení mědi a zinku plamenovou AAS v potravinách je nutné využívat měření na nejcitlivějších rezonančních čárách těchto prvků, tj. 324,7 nm (Cu) a 213,9 nm (Zn). Oba prvky se stanovují výhradně atomizací v oxidačním plameni acetylén-vzduch. Dosažení co nejnižší meze stanovitelnosti je zvláště potřebné u mědi, kde se obvykle setkáváme ve výsledném roztoku s koncentracemi pod 0,05 µg/ml. Citlivost a dosažitelnou mez stanovitelnosti lze ovlivnit podmínkami měření, ke kterým patří (vedle nastavení zmlžovače) výška pozorování, průtok acetylénu a žhavicí proud výbojky s dutou katodou. Tyto tři parametry jsem optimalizovala měřením standardních roztoků analytů a sledovala jsem vliv žhavicího proudu na tvar kalibračních závislostí. Při optimalizaci jsem vycházela z doporučeného nastavení žhavicího proudu výbojky pro příslušný prvek a tuto hodnotu jsem sledovala v rozsahu 1-5 mA. U obou prvků je optimální měření v plameni velmi chudém na palivo (průtok acetylénu 1,1 l/min) a při výšce pozorování cca 5 mm. Ve srovnání s výchozími hodnotami žhavení doporučenými výrobcem lze dosáhnout příznivější meze stanovitelnosti mírným snížením žhavicího proudu výbojky. Za optimálních podmínek činí mez stanovitelnosti mědi cca 0,01 µg/ml.

Sekce 3

MÍSTO: B36

KOMISE

prof. Dr. Ing. Jan Poustka (předseda)

doc. Dr. Ing. Věra Schulzová

Ing. Veronika Svobodová, Ph.D.

PROGRAM

zahájení

09:00 [Bc. Karolína Benešová](#) (M2, Aristeidis Tsagkaris, M.Sc., Ph.D.)

Analytical strategies for the determination of plastic additives in bioindicator matrices

09:20 [Bc. Aneta Holubovská](#) (M1, Ing. Veronika Svobodová, Ph.D.)

Sledování výskytu per-a polyfluoralkylovaných sloučenin ve sněhu a povrchové vodě

09:40 [Bc. Zuzana Kopecká](#) (M2, Ing. Lucie Drábová, Ph.D.)

Studium hladin folátů a vlivu technologických úprav na jejich obsah ve vybraných druzích zeleniny

10:00 [Bc. Lenny Kvapilová](#) (M2, doc. Dr. Ing. Věra Schulzová)

Kontrola použití potravinářských aditiv v nápojích

10:20 [Bc. Lukáš Markvart](#) (M2, doc. Ing. Milena Stránská, Ph.D.)

Biomarkery mykotoxinů v moči - vývoj LC-MS metody

10:40 [Bc. Šejla Musić](#) (M2, Ing. Vít Kosek, Ph.D.)

Screening kontaminantů v kuchyňském nádobí z alternativních materiálů

11:00 [Bc. Eva Pacnerová](#) (M2, Ing. Vojtech Ilko, Ph.D.)

Vznik oxysterolů v tepelně namáhaných tucích a olejích

11:20 [Bc. Ondřej Pospíšil](#) (M2, prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.)

Hodnocení a autentikace jedlého hmyzu dostupného v tržní síti

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - SEKCE 3



Analytical strategies for the determination of plastic additives in bioindicator matrices

Bc. Karolína Benešová (M2)

Školitel: Aristeidis Tsagkaris, M.Sc., Ph.D

Recently, microplastics (MPs) have attracted an ever-increasing attention due to their ecotoxicological impact. In the case of MPs formatted due to the application of agricultural plastics in soil, e.g., mulching films, there are concerns regarding the potential leaking of plastic additives (PAs), chemicals used to customise plastics providing durability and longer shelf-life. PAs may occur in soil as a result of agricultural plastic mishandling; thus, it is necessary to study whether terrestrial organisms accumulate such compounds upon exposure. The aim of this study was to develop and validate a method(s) for the accurate and sensitive measurement of 16 PAs in earthworms (*Lumbricus terrestris* and *Dendrobaena sp.*). Rapid ultrasound assisted extraction with hexane and extraction with ethyl acetate followed by addition of inorganic salts were tested. Instrumental analysis was performed by ultra-high performance chromatography with tandem mass spectrometry. For the most of PAs, the obtained recoveries were in the range of 70-120% with the repeatability <20% and limits of quantification between 1.3-125 ng/g fresh weight (and six time higher for dry weight). Follow up steps include the analysis of earthworms exposed to agricultural plastics within the EU project PAPILLONS.

Sledování výskytu per-a polyfluoralkylovaných sloučenin ve sněhu a povrchové vodě

Bc. Aneta Holubovská (M1)

Školitel: Ing. Veronika Svobodová, Ph.D.

Per- a polyfluoralkylované sloučeniny (PFAS) mají unikátní vlastnosti, kvůli kterým se používají v různých produktech. PFAS jsou schopné odpuzovat vodu, nečistoty a snižovat tření mezi lyžemi a sněhem, a proto se využívaly také do lyžařských vosků. Při běžkování dochází k postupnému uvolňování vosku, což může vést ke kontaminaci sněhu PFAS a poté i půdy a vodních zdrojů. V posledních letech byly lyžařské vosky identifikovány jako zdroj kontaminace životního prostředí a usiluje se o zákaz PFAS v jejich složení. Cílem studie bylo sledování výskytu 27 PFAS ve vzorcích sněhu (n=13) odebraných z různých míst běžeckých tras dvou ski areálů v České republice (Ski areál Břízky v Jablonci nad Nisou, Vysočina Arena v Novém Městě na Moravě) a ve vzorcích povrchových vod (n=9) odebraných z vodních toků v blízkosti Vysočina Areny. Pro stanovení hladin PFAS ve vzorcích byla využita metoda extrakce na tuhou fázi ve spojení s ultra účinnou kapalinovou chromatografií s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Ve vzorcích sněhu i povrchové vody dominovalo zastoupení PFCA (C4-C11). Jediný analyt, který nebyl detekován ve sněhu je PFBS. Naopak v povrchové vodě nebyly detekovány PFDS, 8-2 FTS a 4-2 FTS. Průměrná koncentrace Σ PFAS ve sněhu byla 204 ng/l a v povrchové vodě 17,3 ng/l.

Studium hladin folátů a vlivu technologických úprav na jejich obsah ve vybraných druzích zeleniny

Bc. Zuzana Kopecká (M2)

Školitel: Ing. Lucie Drábová, Ph.D.

Vitamin B9 je hydrofilní vitamin, který se aktivně účastní biosyntézy DNA a hraje klíčovou roli v prevenci mnoha onemocnění, včetně defektů neurální trubice, megaloblastické anémie a kardiovaskulárních onemocnění. Významnými zdroji tohoto vitaminu jsou listová zelenina, luštěniny, pseudoobiloviny, ale také játra a vaječný žloutek. Cílem této práce byl vývoj analytické metody pro stanovení nejčastěji se vyskytujících folátů (kyseliny folové (FA), kyseliny 10-formylfolové (10-FFA), 5-methyltetrahydrofolátu (5-MTHF) a 5-formyltetrahydrofolátu (5-FTHF)) ve špenátu pomocí LC-MS/MS. Metoda byla následně využita pro sledování vlivu kulinárních úprav na hladinu tohoto vitaminu ve špenátu. Testovány byly metody s využitím hydrolýzy kyselinou octovou, enzymu alfa-amylasy a séra získaného z krve krys. Pro ověření funkčnosti metody byl použit referenční materiál BCR 485. Pro sledování procenta přirozeně se vyskytujících forem folátů byly měřeny také vzorky bez hydrolýzy. Průměrný zjištěný obsah folátů v sušině špenátu byl $10,6 \pm 0,1 \mu\text{g/g}$. Zmrazení vzorků způsobilo výrazný pokles obsahu 5-FTHF, zatímco sušení způsobilo pokles obsahu 10-FFA doprovázený zvýšením obsahu 5-MTHF i 5-FTHF. Nejvyšší ztráta folátů byla pozorována u vařených listů špenátu.

Kontrola použití potravinářských aditiv v nápojích

Bc. Lenny Kvapilová (M2)

Školitel: doc. Dr. Ing. Věra Schulzová

Aditiva jsou přídatné látky, které se používají pro zlepšení vzhledu, chuti, konzistence a trvanlivosti potravin a jsou legislativou regulována (Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č.1333/2008). Nejčastěji používanými aditivy v nápojích jsou sladidla, konzervační látky a barviva, která se dělí na přírodní a syntetická a jsou označována specifickým názvem a přiřazeným kódem E. Tato práce se zabývá kontrolou použití aditiv v návaznosti na legislativu a jejich deklaraci na obalech daných nápojů. Cílem práce bylo testovat sadu nealkoholických a alkoholických nápojů na přítomnost syntetických barviv, sladidel a konzervantů. Vzorky nápojů byly analyzovány technikou vysokoúčinné kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí (UHPLC-MS/MS).

Biomarkery mykotoxinů v moči - vývoj LC-MS metody

Bc. Lukáš Markvart (M2)

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

Toxické sekundární metabolity mikromycet, neboli mykotoxiny, jsou jedny z nejčastějších kontaminantů potravin a představují riziko pro konzumenta. Přestože je v současné době kladen vysoký důraz na bezpečnost potravin, kontaminaci mykotoxiny se zcela vyhnout nelze. Pro zjištění expozice mykotoxiny lze analyzovat jak samotné vzorky potravin, tak i biologické vzorky konzumentů, jako například jejich moč, stolicí, mateřské mléko, případně krev. Pro účely biomonitoringu byla na Ústavu analýzy potravin a výživy VŠCHT Praha vyvinuta a validována analytická metoda pro stanovení 59 mykotoxinů a jejich metabolitů, pro účely této práce byla následně upravena a validována pro 13 mykotoxinů v moči, využívající přípravu vzorků moči pomocí modifikované metody QuEChERS, která zajistí částečnou separaci polárních, potencionálně interferujících, složek moči. Separace a detekce byla provedena pomocí kapalinové chromatografie ve spojení s hmotnostně-spektrometrickou detekcí typu Q-orbitrap (Q-Exactive Plus). Výtěžnosti analytů se pohybovaly v rozmezí 62–138 %, opakovatelnosti vyjádřené jako RSD 1–13 % a rozmezí LOQ bylo 0,02–2 ng/mL. Předmětem práce bylo též zhodnocení potenciálu nového Q-orbitrapu (Exploris 240), a to zejména v kontextu zlepšení detektability analytů a snížení LOQ.

Screening kontaminantů v kuchyňském nádobí z alternativních materiálů

Bc. Šejla Musić (M2)

Školitel: Ing. Vít Kosek, Ph.D.

V současné době se na trhu objevuje stále více kuchyňského nádobí z netradičních materiálů, což může mít dopad na bezpečnost potravin, které s ním přijdou do styku. Bambusové nádobí se stalo populární alternativou k tradičnímu kuchyňskému nádobí díky svým ekologickým vlastnostem a odolnosti. V průmyslu se běžně jako přísada při výrobě polymerů používá melaminformaldehyd. Melaminová pryskyřice je známá svou odolností a schopností odolávat vysokým teplotám, což z ní činí oblíbený materiál pro výrobu kuchyňského nádobí. Nicméně, melaminové zboží, i když je nehořlavé, se může pod extrémním teplem rozkládat. Rozkládá se na melamin, který je považován za potenciálně karcinogenní a jeho přítomnost v potravinách způsobila v minulosti řadu kontroverzí a zdravotních problémů. Proto je důležité sledovat jejich obsah a uvolňování do potravin z těchto materiálů. V této práci byl kvantifikován obsah melaminu v nádobí, které obsahovalo melamin i přes to, že výrobce neuváděl jeho obsah na obalu a melamin se uvolňoval jak při styku se simulanty potravin, tak i při opakovaném mytí.

Vznik oxysterolů v tepelně namáhaných tucích a olejích

Bc. Eva Pacnerová (M2)

Školitel: Ing. Vojtech Ilko, Ph.D.

Cholesterol je steroidní látka, která se nachází zejména v živočišných tucích a jeho nadměrný příjem negativně ovlivňuje metabolismus lipidů. Fytosteroly jsou látky strukturně podobné cholesterolu, jsou obsaženy v rostlinných olejích, snižují absorpci cholesterolu z potravy, a tak mohou přispět k ochraně před srdečními chorobami. Oxysteroly jsou skupina oxidovaných derivátů cholesterolu a fytosterolů, které jsou v potravinách zastoupeny mnohem méně než jejich prekurzory. Tepelně nezatížené potraviny je prakticky neobsahují, jejich nárůst je významný zvláště za vysokých teplot. Tato práce se zabývá změnou steroidních látek v tepelně namáhaných tucích a olejích, konkrétně v oleji sójovém, olivovém, slunečnicovém s vysokým obsahem olejové kyseliny a v hovězím loji. Na každém oleji byly dvanáctkrát smaženy hranolky a porovnávaly se vzorky před 1. smažením a vzorky po 12. smažení. Vzorky byly připravené diethyletherovou metodou. Ke kvantifikaci byl použit vnitřní standard cholestan, který se přirozeně nenachází v žádném tuku ani oleji. Ke stanovení byla použita plynová chromatografie s hmotnostním detektorem.

Hodnocení a autentikace jedlého hmyzu dostupného v tržní síti

Bc. Ondřej Pospíšil (M2)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

V Evropské unii je jedlý hmyz považován za novou potravinu. Jednotlivé druhy tedy musí být podrobeny schvalovacímu řízení, než budou uvedeny na trh. Dnes jsou povoleny pouze 4 druhy jako potravina: larvy potěmníka moučného (*Tenebrio molitor*), saranče stěhované (*Locusta migratoria*), cvrček domácí (*Acheta domestica*) a larvy potěmníka stájového (*Alphitobius diaperinus*). V návaznosti na povolené druhy se tedy na trhu objevují potraviny s obsahem hmyzu nebo přímo jedlý hmyz jako takový. Vzhledem k značné nutriční hodnotě můžeme předpokládat falšování některých výrobků (např. záměna druhů, nahrazení hmyzí bílkoviny apod.). Cílem této práce bylo hodnocení a autentikace jedlého hmyzu dostupného v tržní síti. Analyzovány byly vzorky hmyzu a výrobky z nich. Polární analyty byly extrahovány 50% ethanolem, poté následovala jejich separace a detekce pomocí UHPLC-HRMS/MS. Při vyhodnocení dat byly použity pokročilé statistické metody, při kterých byla využita vícerozměrná analýza dat. Navíc byl proveden cílový screening vytipovaných markerů v analyzovaných vzorcích produktů na bázi hmyzu. Pro jednotlivé druhy pak byly nalezeny specifické sloučeniny, které by mohly sloužit pro autentizaci hmyzu.

Sekce 4

MÍSTO: B 33

KOMISE

doc. Dr. Ing. Marek Doležal (předseda)

doc. Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.

Ing. Lucie Drábová, Ph.D.

PROGRAM

zahájení

09:00 [Bc. Denisa Egrová](#) (M2, doc. Ing. Milena Stránská, Ph.D.)

Hodnocení změn v metabolomu sladovaného ječmene po ošetření pulzním elektrickým polem

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

Zhodnocení výskytu chlorovaných parafínů v potravinách na bázi jedlého hmyzu

09:40 [Bc. Jiří Hádek](#) (M1, doc. Ing. Milena Stránská, Ph.D.)

Hodnocení výskytu mykotoxinů v širokém souboru pivních speciálů

10:00 [Aneta Hajznerová](#) (B3, Ing. Beverly Hradecká, Ph.D.)

Akrylamid v proteinových chipsech

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

Lyžařské vosky jako zdroj per- a polyfluoralkylovaných látek

10:40 [Bc. Tereza Jablonská](#) (M1, prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.)

Toxické rostlinné alkaloidy a bioaktivní složky herbálních přípravků

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

Stanovení karotenoidů a jejich forem v krmivech a doplňcích stravy

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - SEKCE 4



Hodnocení změn v metabolomu sladovaného ječmene po ošetření pulzním elektrickým polem

Bc. Denisa Egrová (M2)

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

Mikromycety rodu *Fusarium* jsou významné rostlinné patogeny produkující toxické sekundární metabolity, mykotoxiny, které se snadno přenášejí do potravin a představují riziko pro lidské zdraví. Problematika výskytu fusariových mykotoxinů je závažná zejména ve sladu, neboť během klíčení sladovaných cereálií jsou příznivé podmínky pro rozvoj mikromycet (vlhkost, teplota). Jednou z metod s velkým potenciálem snižovat rozvoj mikromycet během sladování je technologie pulzního elektrického pole (PEF) využívající krátké intenzivní elektrické pulzy k destrukci buněčných stěn mikroorganismů. Cílem provedené studie bylo charakterizovat změny v metabolomu sladovaného ječmene v jednotlivých technologických fázích a sledované jevy interpretovat. Methanolické extrakty meziproductů výroby sladu byly analyzovány pomocí metody U-HPLC-HRMS/MS. Naměřená data byla zpracovávána s využitím softwarových nástrojů MS-DIAL, MS-FINDER a MS-CleanR, pomocí nichž byla získána primární datová matice proměnných. Statistické metody (PCA, OPLS-DA) a filtry (Volcano plot, VIP, ROC) byly aplikovány k identifikaci statisticky významných biomarkerů pro ošetřené a kontrolní vzorky. Paralelně byly monitorovány profily klíčových biomarkerů během celého procesu sladování pomocí korelační analýzy Pattern Hunter.

Zhodnocení výskytu chlorovaných parafínů v potravinách na bázi jedlého hmyzu

Bc. Michaela Freyová (M2)

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

Během posledního desetiletí se jedlý hmyz stává stále populárnější alternativou ke konzumaci živočišných produktů, a to ze zdravotních i ekologických důvodů. S tímto vzrůstajícím zájmem o potraviny s přídavkem hmyzí složky se také zvyšují obavy ohledně jejich chemické bezpečnosti. Tato studie se proto zabývá analýzou chlorovaných parafínů (CP) s krátkým (SCCP) a středním (MCCP) řetězcem v potravinách vyrobených z jedlého hmyzu. Bylo analyzováno celkem 34 vzorků potravin z jedlého hmyzu, který byl získán z potměníka moučného, cvrčka domácího, cvrčka krátkokřídlého a cvrčka banánového. Tyto vzorky pocházely z různých zemí, obsahovaly různé procentuální podíly hmyzí složky a byly zpracovány různými způsoby včetně mletí na mouku, přídavku koření, sušení a výroby chipsů a tyčinek. Pro analýzu byly vzorky extrahovány ethylacetátem, a následně byly přečištěny pomocí extrakce na tuhou fázi (SPE). CP byly analyzovány pomocí plynové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií s negativní chemickou ionizací a analyzátozem doby letu (GC- NCI- TOF- HRMS). Na základě přechozích experimentů, ve kterých byla použita tato metoda a podobné vzorky jedlého hmyzu, lze očekávat nálezy SCCP až 2 000 ng/g lipidů a MCCP až 4 700 ng/g lipidů.

Hodnocení výskytu mykotoxinů v širokém souboru pивních speciálů

Bc. Jiří Hádek (M1)

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

Ačkoliv je pivo celosvětově nejkonzumovanější alkoholický nápoj, obsahuje kromě řady pozitivně působících bioaktivních látek také sekundární metabolity mikroskopických hub, takzvané mykotoxiny. Mezi nejčastější zástupce mykotoxinů v pivu patří například deoxynivalenol (DON), další mykotoxiny ze skupiny trichothecenů, ochratoxin A nebo fumonisiny, přičemž nejfrekvencovanějším zástupcem mykotoxinů v pivech vyráběných v naší geografické oblasti na bázi ječného sladu je DON a jeho glykosilovaná forma, DON-3-glukosid. Předpoklad trendu výskytu mykotoxinů v pivu se odvíjí mimo jiné od stupňovitosti piva, měl by tedy stoupat s hmotnostním obsahem extraktabilních látek v mladině. Cílem této práce bylo ověřit tuto hypotézu analýzou širokého spektra pивních speciálů, konkrétně se jednalo o 100 vzorků od českých i zahraničních výrobců. Po částečné purifikaci vzorků a zakoncentrování na vakuové odparce následovala analýza metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostním spektrometrem (UHPLC-MS). Kvantifikace detekovaných mykotoxinů byla provedena pomocí metody vnějšího standardu a matriční kalibrační řady.

Akrylamid v proteinových chipsech

Aneta Hajznerová (B3)

Školitel: Ing. Beverly Hradecká, Ph.D.

Mezi výrobky, které se v potravinářském průmyslu začaly hojně produkovat ve „zdravější proteinové variantě“, patří proteinové chipsy, jejichž oblíbenost vzrostla nejen u sportovců, ale i u nesportující populace, která tyto snacky zařazuje do svého jídelníčku jako rychlý doplněk přirozených zdrojů bílkovin. Ke zvýšení obsahu proteinu výrobci používají mouky například cizrnové, čočkové, fazolové, hrachové, cvrččí nebo klasické bramborové např. s příměsí sójového proteinu. S technologickým zpracováním těchto produktů zahrnující vysoké teploty, je spojen potenciál vzniku procesního kontaminantu akrylamidu (pravděpodobný lidský karcinogen skupiny 2A), jehož prekursorů jsou redukující cukry a primárně aminokyselina asparagin. V roce 2017 zavedla evropská komise tzv. porovnávací hodnoty, jejichž účelem je ověření účinnosti stanovených opatření pro snížení obsahu akrylamidu v potravinách, které nejrelevantněji přispívají k dietární expozici. S ohledem na výše uvedené a dosud málo provedené studie bylo cílem práce provést průzkum kvality těchto výrobků na českém trhu z hlediska obsahu akrylamidu. Vzorů byly připraveny v rámci akreditované metody a analyzovány kapalinovou chromatografií ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (U-HPLC-MS/MS).

Lyžařské vosky jako zdroj per- a polyfluoralkylovaných látek

Bc. Alžběta Horáková (M1)

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

Per- a polyfluoralkylované látky (PFAS) představují perzistentní organické polutanty, kterým se v současnosti věnuje značná pozornost díky jejich všudypřítomnosti a prokázanému negativnímu vlivu na lidské zdraví. Lyžařské vosky byly identifikovány jako zdroj PFAS v životním prostředí, což vedlo k zavedení přísných omezení výroby vosků v rámci EU, Nařízením EK 2020/784, které stanovuje maximální povolenou koncentraci perfluoroktanové kyseliny (PFOA) a jejích prekurzorů <25 ng/g. Současně byl ohlášen zákaz používání fluorovaných lyžařských vosků na mezinárodních lyžařských závodech od 1. července 2023. Cílem této studie bylo vyvinout analytickou metodu pro analýzu 32 různých PFAS v lyžařských voscích s využitím ultra účinné kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Validovaná metoda byla aplikována na 24 vzorků lyžařských vosků zakoupených na českém trhu nebo získaných od amatérských lyžařských oddílů. Součástí studie bylo také vyvinutí komplementární analytické metody pro rychlou identifikaci PFAS v lyžařských voscích pomocí infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací, která byla aplikována na stejný soubor vzorků. Studií byla potvrzena přítomnost PFOA v lyžařských voscích s nálezy 1-40 625 ng/g. Ve 13 z 24 vosků překročily nálezy PFOA limit EK.

Toxické rostlinné alkaloidy a bioaktivní složky herbálních přípravků

Bc. Tereza Jablonská (M1)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Heřmánek pravý (*Matricaria chamomilla*) patří k nejvyužívanějším rostlinám pro výrobu jednodruhových čajů. Je vyhledáván pro velké množství bioaktivních látek, díky kterým jsou této rostlině připisovány terapeutické účinky. Mezi nejdiskutovanější látky řadíme flavonoidy, terpenoidy, vitamíny a kumariny, u kterých můžeme sledovat antioxidační, protizánětlivé a jiné pozitivní účinky. S konzumací bylinných čajů je však spojeno také riziko jejich kontaminace toxickými látkami, ke které může dojít při sklizni, kdy jsou přimísены i rostliny produkující toxické rostlinné alkaloidy. Z hlediska zdravotních rizik jsou sledovány především alkaloidy tropanové a pyrrolizidinové, pro která jsou zavedena legislativní opatření. Cílem této práce bylo zhodnotit výskyt bioaktivních látek a toxických alkaloidů v souboru 30 vzorků bylinných čajů na bázi heřmánku pravého běžně dostupných na trhu ČR. Celkem bylo sledováno 32 pyrrolizidinových a 16 tropanových alkaloidů pomocí metody ultra-účinné kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-MS/MS). U 47 % vzorků byl detekován alespoň jeden cílový analyt. Pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-HRMS/MS) bylo ve vzorcích sledováno 71 bioaktivních látek.

Stanovení karotenoidů a jejich forem v krmivech a doplňcích stravy

Bc. Kamila Mimrová (M2)

Školitel: doc. Dr. Ing. Věra Schulzová

Karotenoidy jsou přírodní barviva lipofilního charakteru, která se vyskytují v rostlinách, některých řasách a mikroorganismech. Do potravin živočišného původu se karotenoidy dostávají díky inkorporaci karotenoidů z krmiv. Karotenoidy jsou často využívány v doplňcích stravy pro své antioxidační účinky a další biologickou aktivitu. V současnosti se do popředí výzkumu v oblasti karotenoidů dostal astaxanthin, který je syntetizován především řasou *Haematococcus pluvialis*. Tato práce se zabývá metodami stanovení karotenoidů, zejména astaxanthinu v řase, krmivech a doplňcích stravy. Jedná se především o vývoj a optimalizaci metody, pozornost je věnována výtěžnosti extrakce astaxanthinu a dalších karotenoidů z výše zmíněných maticí. V rámci práce jsou porovnány extrakční metody kyselé, alkalické a enzymatické hydrolýzy. Samotná separace a detekce karotenoidů probíhala za použití vysokoúčinné kapalinové chromatografie s detektorem diodového pole.

Ústav konzervace potravin (324)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

SEZNAM SEKČÍ

1. [Ústav konzervace potravin](#)

Ústav konzervace potravin

MÍSTO: B22

KOMISE

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

Ing. Lenka Votavová, Ph.D.

Ing. Vojtěch Kružík, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

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

Optimalizace výroby fermentovaných potravin

09:15 [Bc. Filip Bucko](#) (M2, Ing. Eva Šviráková, Ph.D.)

Mikrobiologická stabilita ovocných sirupů

09:30 [Bc. Emma-Josefina Klaisnerová](#) (M2, prof. Ing. František Kvasnička, CSc.)

Možnosti využití chitosanu pro konzervaci potravin

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

Analýza profilů těkavých látek pro hodnocení kvality potravin

10:00 [Bc. Martina Málková](#) (M2, Ing. Iveta Šítková)

Vliv zpracování na kvalitativní parametry řepkového oleje

10:15 [Bc. Lenka Nguyenová Xuanová](#) (M2, doc. Ing. Aleš Rajchl, Ph.D.)

*Assessment of peanut (*Arachis hypogaea* L.) quality by the DART-MS method*

10:30 [Bc. Petra Svobodová](#) (M2, doc. Ing. Helena Čížková, Ph.D.)

Nové zdroje bílkovin z odpadů z výroby ovocných šťáv

10:45 [Bc. Adéla Velková](#) (M2, doc. Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D.)

Posouzení trvanlivosti masných výrobků

11:00 [Karin Zelinová](#) (M2, Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.)

Možnosti použití polymléčné kyseliny při balení potravin

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - ÚSTAV KONZERVACE POTRAVIN

vesmír

Optimalizace výroby fermentovaných potravin

Bc. Natálie Alferyová (M2)

Školitel: Ing. Iveta Horsáková, Ph.D.

Cílem práce je definovat podmínky pro výrobu kombuchy. Primárním testovaným faktorem byla konstantní teplota fermentace, a to 20, 25 a 30 °C. Parametry sledované v průběhu fermentace byly vývoj pH a mikrobiální koncentrace. V rámci mikrobiologického rozboru byly stanovovány bakterie mléčného kvašení, bakterie octového kvašení, kvasinky a plísně, za účelem zhodnocení vývoje mikroflóry ve vzorcích. Po ukončení fermentačního procesu byla provedena senzorická analýza a izotachoforeticky stanoveny koncentrace kyseliny mléčné a octové. Nejrychlejší stabilizování hodnoty pH bylo dosaženo fermentací vedenou při 20 °C a senzoricky byl tento vzorek hodnocen nejlépe. Proto byla teplota 20 °C zvolena jako ideální pro navazující fáze experimentu. Následně byla testována různá počáteční koncentrace cukru, a to 60 g/l, 75 g/l (standard) a 90 g/l plus navíc varianta 75 g/l cukru s přidavkem bakterie *Lactiplantibacillus plantarum*. Mezi sledované parametry byla přidána refrakce, pro snazší určení bodu pro ukončení fermentace v provozních podmínkách výroby. Různá počáteční koncentrace cukru, stejně jako přidavek bakterie mléčného kvašení, byla testována s cílem dosáhnout požadovaných senzorických vlastností výsledného produktu.

Mikrobiologická stabilita ovocných sirupů

Bc. Filip Bucko (M2)

Školitel: Ing. Eva Šviráková, Ph.D.

V rámci průmyslové výroby ovocných sirupů je upřednostňován trend výroby zdravotně mikrobiologicky bezpečných a jakostních výrobků. U sirupů je primárně sledována a zajišťována jejich mikrobiologická stabilita. Ta se může významně zhoršovat zejména u inovovaných sirupů, například při náhradě klasických sladidel za nízkonoenergetická sladidla. V těchto systémech se nabízí použití přírodních látek s antimikrobiálními účinky, mezi které se řadí i chitosan, vykazující široké antimikrobiální spektrum účinku. Cílem této práce je zjistit mikrobiologickou stabilitu sirupů jahodových a malinových, při náhradě sacharózy za čekankový sirup a při přidavku chitosanu (0; 0,2 a 0,4 hm. %), cíleně kontaminovaných bakteriemi vybraného kmene *Gluconobacter oxydans* CCM 3618, během 35denních skladovacích pokusů s využitím laboratorního denzitometru Densi-la-meter II. Na základě získaných výsledků bylo sumárně konstatováno, že mikrobiálně nejstabilnější byly zjištěny ovocné sirupy jahodové i malinové se sacharózou, a také inovované sirupy jahodové i malinové s čekankovým sirupem a přidaným chitosanem (0,4 hm. %). Získané výsledky mohou být využitelné zejména při výrobě ovocných sirupů s inovovanou recepturou, ve snaze zabezpečit u nich co nejvyšší mikrobiologickou stabilitu s využitím chitosanu.

Možnosti využití chitosanu pro konzervaci potravin

Bc. Emma-Josefina Klaisnerová (M2)

Školitel: prof. Ing. František Kvasnička, CSc.

Chitosan je polysacharid skládající se z jednotek acetylovaného i neacetylovaného D-glukosaminu. Je vyráběn deacetylací chitinu, jehož hlavním zdrojem jsou exoskelety korýšů. Je to také látka rozpustná v kyselém prostředí, kde má antimikrobiální účinky a také je schopná tvorby polopropustných fólií, které lze tvořit vysušením roztoků směsi chitosanu v roztoku organické kyseliny s případným s přidavkem další látky, jako je škrob nebo glycerin, pro zlepšení kvality vytvořené fólie. V rámci této laboratorní práce byly použity roztoky kyseliny octové a citronové, glycerin a čtyři typy chitosanu, vysoko molární, středně molární a nízko molární od společnosti SIGMA ALDRICH a komerčně dostupný chitosan od společnosti PORTA, u kterých byly měřeny různé funkční vlastnosti důležité u obalových materiálů. Z hlediska propustnosti vlhkosti a kyslíku měla nejlepší vlastnosti fólie vytvořená z kyseliny citronové a nízko molárního chitosanu. Nejnižší úroveň transmitance byla změřena u fólie z kyseliny octové a vysoko molárního chitosanu. Nejlepší mechanické vlastnosti, které byly měřeny pouze u fólií z kyseliny octové, měla fólie z nízko molárního chitosanu.

Analýza profilů těkavých látek pro hodnocení kvality potravin

Bc. Tereza Minářová (M2)

Školitel: Ing. Vojtěch Kružík, Ph.D.

Při hodnocení potravin hraje významnou roli zastoupení charakteristických těkavých látek. Na základě jejich rozboru je možné získat určité informace o kvalitě potravin, falšování nebo dodržení technologických postupů. Protože je není jednoduché extrahovat z matrice s vysokým obsahem tuku, zkoumají se nové metody extrakce, jako je právě metoda SAFE (odpařování aromat za asistence rozpouštědla). Tato technika probíhá při nízkých teplotách a tlaku v přítomnosti organického rozpouštědla. Identifikace sloučenin byla provedena pomocí GC/MS a doplněna olfaktometrickým portem. Analýza byla prováděna na vzorku řepkového oleje a optimalizace metody probíhala v několika fázích. Nejprve byla provedena extrakce a analýza samotného rozpouštědla (dichlormethanu) pro zjištění případně kontaminace. Dále byl sledován vliv vzorku (10 a 30 g ve 100 ml rozpouštědla). A nakonec byly spolu se vzorkem extrahovány standardy o koncentraci 1 mg/l a 10 mg/l pro sledování výtěžnosti metody, který se v průměru pohyboval nad 56 % v závislosti na typu sloučeniny. Extrakt z 30 g oleje (ve 100 ml rozpouštědla) a standardu (10 mg/l v 10 g vzorku) byl podroben olfaktometrické analýze. V případě vzorku s přídavkem standardů bylo vyhodnoceno 12 těkavých látek jako senzoricky aktivních a u vzorku 30 g 14 sloučenin.

Vliv zpracování na kvalitativní parametry řepkového oleje

Bc. Martina Málková (M2)

Školitel: Ing. Iveta Šístková

Práce se zabývá vlivem zpracování na kvalitativní parametry řepkového oleje, řešen je profil mastných kyselin, obsah karotenoidů a chlorofylů, obsah fosfolipidů a profil těkavých látek. Analyzovány byly vzorky řepkových olejů lisovaných za studena, za tepla a extrahovaných, získaných z 8 různých odrůd řepky. Nejvíce zastoupenými mastnými kyselinami v řepkových olejích jsou kyselina olejová, linolová a linolenová. Část odrůd měla vyšší zastoupení kyseliny olejové ($p < 0,05$), tyto odrůdy se označují jako „HO“ (high oleic). Teplota lisování neměla vliv na profil mastných kyselin, ovšem vzorky extrahovaných olejů vykazovaly statisticky nižší relativní zastoupení kyseliny olejové a vyšší zastoupení kyseliny linolové ($p < 0,05$). Skupina extrahovaných olejů měla vyšší obsah trans mastných kyselin než obě skupiny olejů lisovaných ($p < 0,05$). Nejvíce karotenoidů a chlorofylů obsahovaly extrahované oleje ($p < 0,05$). Oleje lisované za tepla měly vyšší obsah karotenoidů než skupina lisovaných za studena ($p < 0,05$), obsah chlorofylů byl srovnatelný. Stejný trend byl zjištěn i u obsahu fosfolipidů. Profil těkavých látek byl u extrahovaných olejů značně rozdílný oproti olejům lisovaným z důvodu použití rozpouštědla při zpracování. Oleje lisované za tepla a za studena měly podobný profil těkavých látek.

*Assessment of peanut (*Arachis hypogaea* L.) quality by the DART-MS method*

Bc. Lenka Nguyenová Xuanová (M2)

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

Direct analysis in real time (DART) mass spectrometry was proposed as a useful analytical tool to assess the quality of peanuts due to its simple and easy sample preparation, and rapid ionisation abilities at atmospheric pressure, compared to the conventional, time-consuming methods of free fatty acid content (FFA), peroxide value (PV), and thiobarbituric acid reactive substances test (TBARS). A storage test at 55 °C was conducted. Peanuts and cold-pressed peanut oil were stored in low-density polyethylene packaging for 7 weeks to promote oxidative rancidity. Sampling was conducted once per week. FFA, PV, and TBARS were determined weekly to monitor peanut rancidity extent. Parameters for DART-MS ionisation were optimised. Ideal ionisation temperatures were 300 °C and 350 °C for negative and positive modes, respectively. Similarly, the ideal solvent dilution of 1:50 was chosen for hexane and toluene. Results showed an increasing trend in PV, FFA, and TBARS values. Bottled oil samples exhibited a faster rate of deterioration than oil extracted from stored peanuts. Mass spectra obtained from DART-MS have the potential to reflect distinct changes in chemical composition and to identify markers of peanut quality deterioration.

Nové zdroje bílkovin z odpadů z výroby ovocných šťáv

Bc. Petra Svobodová (M2)

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

Řešení problému plýtvání potravinami je nejen v Evropské Unii, ale i celosvětově aktuální a vysoce naléhavou výzvou vzhledem k stále narůstající populaci na planetě. Ročně se vyhodí desítky kilotun potravin v rámci celé EU. Zhruba 20 % je vyhozeno právě při zpracování a výrobě potravin. Jedním z běžných odpadů v této oblasti jsou i malinová semena, která jsou vedlejším produktem při výrobě malinových šťáv. Mezi potenciálně využitelné složky patří proteiny, které lze ze semen izolovat s cílem získat je v nativní formě zbavené nežádoucích komponent, především polyfenolů. U extrahovaných proteinů budou analyzovány jejich fyzikálně-chemické vlastnosti a zhodnoceny jejich funkční vlastnosti jako je tvorba gelů nebo stabilizace emulzí. Po zhodnocení získaných dat z měření daných proteinů bude následně navržena aplikace v produktu v rámci potravinářského sektoru.

Posouzení trvanlivosti masných výrobků

Bc. Adéla Velková (M2)

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

Laktoperoxidasa (též LP systém) je jedním z nejvýznamnějších enzymů slinných a mléčných žláz, kde má za úkol inhibovat či inaktivovat růst mikroorganismů. Je prokázáno, že LP systém může prodloužit dobu skladování syrového mléka inhibicí růstu bakterií, zejména *Listeria monocytogenes*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas* spp. Nejvyšší účinek LP vykazuje při nižších teplotách, ale je rezistentní vůči tepelnému ošetření a aktivní v rozmanité škále pH od 4 do 11. Díky těmto předpokladům by účinnost enzymu mohla být využívána k prodloužení trvanlivosti jiných potravin, a to i například masných výrobků. Přídavkem LP do šunky dochází ke zlepšení její textury (soudržnosti), poklesu aktivity vody, zpomalení procesu žluknutí (TBARS), přičemž LP chuť a barvu finálního výrobku neovlivňuje. U masových kostek naočkovaných *Listeria innocua* a ošetřených LP byl potlačen růst Listerie zejména v prvních třech dnech pokusu a při nižších teplotách skladování kostek. Dle těchto výsledků by LP mohla být potencionálně použita na podstatně širší škálu výrobků, než na které je v současné době omezena.

Možnosti použití polymléčné kyseliny při balení potravin

Karin Zelinová (M2)

Školitel: Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

V dnešní době je stále častěji diskutovaným tématem klima, které je, jak známo, negativně ovlivňováno chováním člověka. V této spojitosti hrají důležitou roli plastové obaly, které nezanedbatelně navyšují emise skleníkových plynů. Tady však jejich negativa nekončí. Jsou také hrozbou z hlediska čerpání neobnovitelných zdrojů, hromadění se v životním prostředí a uvolňování mikroplastů. Z toho důvodu jsou hledány alternativy obalových materiálů šetrnější k životnímu prostředí. Jedním z nejvíce diskutovaných materiálů je kyselina polymléčná (PLA). Jedná se o materiál, který je svými mechanickými a fyzikálními vlastnostmi podobný plastům, je vyráběn z obnovitelných zdrojů a v řízených podmínkách je kompostovatelný. V této práci byly porovnávány experimentálně zjištěné vlastnosti PLA, polyethylenu s nízkou hustotou (LDPE) a polyethylenu s vysokou hustotou (HDPE). Stanovena byla celková migrace, mechanické vlastnosti, hustota, transmitance a propustnost pro vlhkost, kyslík a tuky. Další výzkum bude zaměřen na testování PLA jako obalového materiálu přímo na vybraných potravinách. Stejným testům budou podrobeny také LDPE a HDPE a výsledky budou porovnány.

Ústav chemie přírodních látek (342)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Elena Prokudina, Ph.D.

SEZNAM SEKCÍ

1. [Ústav chemie přírodních látek I](#)
2. [Ústav chemie přírodních látek II](#)

Ústav chemie přírodních látek I

MÍSTO: RESPIRIUM

KOMISE

Doc. Dr. Ing. Ivan Raich (předseda)

Ing. Elena Prokudina Ph.D.

Doc. Ing. Jan Tauchen Ph.D.

PROGRAM

08:30 zahájení

[Bc. Adéla Bohatá](#) (M2, PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.)

Stanovení vybraných sekundárních metabolitů v zástupcích rodu Amanita metodou HPLC-MS

[Kateřina Eliášová](#) (B3, Ing. Bronislav Jurásek, Ph.D.)

Identifikace a kvantifikace psychoaktivních látek s využitím mobilních spektroskopických metod

[Bc. Dominik Lovás](#) (M2, prof. Dr. RNDr. Oldřich Lapčík)

Sekundární metabolity rodu Exobasidium (Fungi: Basidiomycota) a jejich biotechnologický význam.

[Bc. Michaela Maříková](#) (M2, doc. Ing. Martin Kuchař, Ph.D.)

Vývoj a validace LC-MS metody pro stanovení ketaminu, norketaminu a midazolamu v lidském séru v klinickém hodnocení léčby deprese

[Bc. Pavlína Soukupová](#) (M2, PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.)

Stanovení bioaktivních látek kozince blanitého (Astragalus mongholicus)

[Bc. Marek Vurm](#) (M2, doc. Ing. Martin Kuchař, Ph.D.)

Stanovení tryptaminových alkaloidů a jejich metabolitů v moči pacientů trpících pooperačním deliriem po operaci srdce

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - ÚSTAV CHEMIE PŘÍRODNÍCH LÁTEK I



vesmír
L'ORÉAL

Stanovení vybraných sekundárních metabolitů v zástupcích rodu Amanita metodou HPLC-MS

Bc. Adéla Bohatá (M2)

Školitel: PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.

Nejznámějšími druhy z rodu *Amanita* jsou muchomůrky červená (*A. muscaria*) a tygrovaná (*A. pantherina*). Jejich historie užívání sahá až do dávných dob, kdy byly užívány pro své psychotropní účinky. Muchomůrku červenou pozná každý díky jejímu červenému zbarvení a často ji lze zahlédnout v animovaných pohádkách, kde představuje pomyslné nebezpečí. I když se jedná o jedovatou houbu, která může představovat hrozbu, tak je zdrojem mnoha sloučenin, které by mohly v budoucnu mít potenciál k využití v medicínské oblasti. Hlavní obsahové látky v houbě, které zapříčiňují psychotropní efekty, jsou kyselina ibotenová a muscimol, který je produktem dekarboxylace kyseliny ibotenové. Cílem mé práce je kvantifikovat vybrané sekundární metabolity ve vzorcích hub metodou HPLC-MS. Budu se věnovat zejména stanovení muskarinu, muscimolu a kyseliny ibotenové. Kromě vývoje vhodné HPLC-MS metody se zabývám vývojem postupu vhodného pro extrakci analytů z hub, optimalizaci a validaci metody. Výsledné zastoupení analytů v jednotlivých druzích z různých koutů České republiky budou v budoucnu porovnány mezi sebou a budou diskutovány možné vlivy ovlivňující složení zkoumaných alkaloidů v jednotlivých houbách.

Identifikace a kvantifikace psychoaktivních látek s využitím mobilních spektroskopických metod

Kateřina Eliášová (B3)

Školitel: Ing. Bronislav Jurásek, Ph.D.

Typickou mobilní metodou, která se v dnešní době používá k analýze psychoaktivních látek, je plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS). Jedná se o metodu robustní, ale destruktivní. Pro nedestruktivní a rychlou analýzu v terénu bez potřeby úpravy vzorku by mohla být přínosná spektroskopie blízké infračervené oblasti (NIR). Cílem mé práce je ověřit schopnosti NIR, identifikovat a kvantifikovat vzorky kokainu a případně přispět svými měřeními ke zpřesnění stávajícího modelu, který k identifikaci a kvantifikaci přístroj používá. Změřila jsem sérii dvousložkových směsí připravených v laboratoři na dvou přístrojích MicroNIR OnSite-W. Každé měření jsem provedla desetkrát. Následně jsem proměřila sadu pouličních vzorků a kvantifikovala jsem množství kokainu v těchto vzorcích. Výsledky mé dosavadní práce naznačují, že NIR by mohl být použit v terénu pro kvalitativní a předběžnou kvantitativní analýzu kokainu. Pro potvrzení této hypotézy budu srovnávat kvantitu kokainu získanou pomocí NIR s doplňkovou analýzou. Výsledky měření mohou sloužit k upřesnění stávajících modelů, kterých přístroj MicroNIR OnSite-W využívá, což dále povede ke zpřesnění analýz.

Sekundární metabolity rodu Exobasidium (Fungi: Basidiomycota) a jejich biotechnologický význam.

Bc. Dominik Lovás (M2)

Školitel: prof. Dr. RNDr. Oldřich Lapčík

Rod *Exobasidium* (Exobasidiales, Ustilaginomycotina, Basidiomycota) zahrnuje 50 druhů, které jsou rozšířeny po celém světě a jsou důležitými rostlinnými patogenními houbami, které se vyskytují jako parazité na dřevinách, jako jsou Ericaceae, Theaceae a Lauraceae. Některé druhy rodu *Exobasidium* mohou snižovat produkci a kvalitu úrody čaje. Naprostá většina druhů není známa z axenické kultury a dosud nebyly publikovány žádné údaje o jejich sekundárních metabolitech (SM). Dosavadní studium na kmenu *Exobasidium* sp., že tyto houby produkují pigmenty patřící mezi naftochinony. Naftochinony jsou látky s řadou účinků, jako jsou antimikrobní, antifungální, antivirální, antiparazitární, či protinádorové. Zajímavou otázkou je zapojení těchto látek do patogeneze. Cílem práce je 1) poznání metabolické diverzity SM produkovaných rodem *Exobasidium* (cca 5 druhů), 2) hledání stimulantů produkce SM u rodu *Exobasidium*, 3) zjištění biotechnologického a farmakologického potenciálu získaných SM. Práce bude zahrnovat kultivaci mikrobiálních kmenů a izolaci, purifikaci a identifikaci sek. metabolitů (HPLC, MS, NMR, Rentgenová krystalografie) a studium biologických aktivit (antibakteriální, antifungální, antiparazitární, nematocidní, protinádorová a fytotoxická).

Vývoj a validace LC-MS metody pro stanovení ketaminu, norketaminu a midazolamu v lidském séru v klinickém hodnocení léčby deprese

Bc. Michaela Maříková (M2)

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

Cílem práce je vyvinout LC-MS metodu pro stanovení ketaminu, norketaminu a midazolamu v lidském séru. Metoda bude aplikována na vzorky séra pacientů s farmakorezistentní depresí, účastnících se klinické studie PSIKET na Národním ústavu duševního zdraví (NÚDZ). Studie se zaměřuje především na rychle nastupující antidepresivní efekt psilocybinu. Ketamin je disociativní anestetikum s již známým antidepresivním účinkem a ve studii slouží jako kontrolní látka. Midazolam je v ní používán jako aktivní placebo, tedy látka psychoaktivní, ale bez antidepresivního účinku. V mé práci byla pozornost věnována vývoji a validaci LC-MS metody. Optimalizace separace zahrnovala použití různých kolon, složení mobilní fáze a jejího gradientu. Dále byla provedena optimalizace parametrů iontového zdroje hmotnostního spektrometru. Poté následoval vývoj a optimalizace extrakčního postupu – precipitace proteinů organickými rozpouštědly a také různé varianty extrakce vysolováním (SALLE). Precipitace 0,1% kyselinou mravenčí v acetonitrilu poskytovala nejlepší výtěžnost a nejnižší matricový efekt, a byla tedy vybrána jako finální postup. Vyvinutá metoda byla validována podle směrnice ICH M10 Evropské agentury pro léčivé přípravky (EMA).

Stanovení bioaktivních látek kozince blanitého (Astragalus mongholicus)

Bc. Pavlína Soukupová (M2)

Školitel: PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.

Kozinec blanitý (*Astragalus mongholicus*) je víceletá bylina z čeledi bobovitých (*Fabaceae*), používaná po tisíce let zejména v čínské tradiční medicíně. Za jeho široké spektrum blahodárných účinků jsou zodpovědné hlavně biologicky aktivní látky obsažené v kořenu rostliny, který se po zpracování prodává jako doplněk stravy. Jedná se o adaptogenní rostlinu napomáhající organismu přizpůsobit se na psychickou i fyzickou zátěž. Současné vědecké výzkumy ukazují, že cykloastragenol obsažený v kozinci je schopný zvyšovat aktivitu telomeráz, které prodlužují telomery, snižují degradaci DNA a tím tak teoreticky zpomalují stárnutí. V mé práci se věnuji stanovení vybraných bioaktivních látek kozince blanitého v potravinových doplňcích pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (HPLC-MS/MS). Zaměřila jsem se na skupinu polyfenolických látek, včetně flavonoidů a fenolických kyselin. Dále jsem se věnovala steroidním látkám, pro stanovení některých z nich bylo nutné kvůli nedostatečné ionizaci v iontovém zdroji provést derivatizační reakci. Mým dalším cílem je vyvinutí a optimalizace metody pro stanovení cykloastragenolu a astragalosidů.

Stanovení tryptaminových alkaloidů a jejich metabolitů v moči pacientů trpících pooperačním deliriem po operaci srdce

Bc. Marek Vurm (M2)

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

Pooperační delirium představuje závažný stav, který může ovlivnit zotavení pacientů, může zanechat trvalé následky a v nejhorším případě skončit i úmrtím pacienta. Je charakterizován zmateností, narušeným vědomím, mohou se objevit i halucinace a často se vyskytuje po rozsáhlých chirurgických zákrocích, především u starších pacientů. Je spojeno s narušením metabolismu tryptofanu. Práce se zabývá analýzou serotoninu, *N,N*-dimethyltryptaminu (DMT) a 5-hydroxy-*N,N*-dimethyltryptaminu (bufotenin) v moči pacientů po operaci srdce trpících pooperačním deliriem pomocí HPLC-MS. Analýza těchto tryptaminů nabízí potenciál pro identifikaci biochemických markerů spojených s deliriem, což by mohlo vést k lepší diagnostice, prevenci a léčbě. Tím by se zásadně mohla zlepšit kvalita péče o pacienty trpící tímto stavem. Tato práce poskytuje nové informace o možných biochemických souvislostech s pooperačním deliriem a může položit základy pro vývoj nových léčebných postupů či preventivních opatření.

Ústav chemie přírodních látek II

MÍSTO: RESPIRIUM

KOMISE

Ing. Petr Štěpánek Ph.D. (předseda)

PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D

Ing. Michal Jurášek, Ph.D.

PROGRAM

08:30 zahájení

[Bc. Michal Fischer](#) (M2, Ing. Kamil Parkan, Ph.D.)

Syntéza analogů mannosy-6-fosfátu

[Bc. Hana Fuxová](#) (M2, doc. Dr. Ing. Ivan Raich)

Modelovací studie interakcí kyseliny 3-sulfopropionové a jejích analogů a prekurzorů s A β -peptidy

[Bc. Klaudia Hladoníková](#) (M2, Ing. Kamil Parkan, Ph.D.)

Molekulární mechanismy působení M6P/IGF2 receptoru v bunkách

[Klára Mansfeldová](#) (B3, Ing. Kamil Parkan, Ph.D.)

Inovativní přístup k α -aryl-S-glykosidům

[Bc. Adam Rybka](#) (M2, Ing. Kamil Parkan, Ph.D.)

Syntéza izotopově značených ^{15}N -aminosacharidů pro NMR strukturní analýzu

[Daniel Smíšek](#) (B3, doc. Ing. Martin Kuchař, Ph.D.)

Optimalizace fotokatalytické degradace MDMA z vody

[Zuzana Turková](#) (B3, doc. Ing. Martin Kuchař, Ph.D.)

Optimalizace fotokatalytické degradace sildenafilu na imobilizovaném fotokatalyzátoru

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - ÚSTAV CHEMIE PŘÍRODNÍCH LÁTEK II



vesmír
L'ORÉAL

Syntéza analogů mannosy-6-fosfátu

Bc. Michal Fischer (M2)

Školitel: Ing. Kamil Parkan, Ph.D.

Mannosa-6-fosfát se v organismu váže na M6P/IGF2 (IGF = *insulin-like growth factor*) receptor. M6P/IGF2 receptor hraje roli například v regulaci růstu, diferenciaci tkání a v posilování a obnově paměti¹. Též bylo zjištěno, že rakovinné buňky obsahují větší množství IGF2/M6P receptorů než buňky zdravé². Tento receptor tedy může být cílem pro terapii neurodegenerativních poruch, například Alzheimerovy choroby, ale také pro cílení léčiv přímo do nádorových buněk. Využití přímo mannosy-6-fosfátu není vhodné, kvůli nestabilitě fosfátové skupiny, která je v organismu rychle hydrolyzována. Nabízí se tedy využití bioisosterických fosfonátů, kde je atom fosforu vázán k d-mannose přes uhlík, namísto přes kyslík, jak je tomu u fosfátů. Cílem mé práce je syntetizovat stabilní analogy mannosy-6-fosfonátu, konkrétně jeho C-glykosidy, které jsou stabilnější oproti O-glykosidům. Připravené deriváty budou testovány pro svou potenciální biologickou aktivitu v rámci spolupráce s ÚOCHB. (1) Kornfeld, S. *Annu. Rev. Biochem* 1992, 61, 307-330. DOI: 10.1146/annurev.bi.61.070192.001515. (2) Zhao, Y.; Escot, C.; Maudelonde, T.; Puech, C.; Rouanet, P.; Rochefort, H. *Cancer Res.* 1993, 53 (12), 2901-2905.

Modelovací studie interakcí kyseliny 3-sulfopropionové a jejích analogů a prekursorů s Aβ-peptidy

Bc. Hana Fuxová (M2)

Školitel: doc. Dr. Ing. Ivan Raich

Za iniciační roli v patologii Alzheimerovy choroby je považováno chybné sbalení amyloid- β peptidů a jejich následná agregace za vzniku toxických A β -oligomerů. Základem kauzální léčby je předcházet tvorbě toxických A β -oligomerů, fibrilů a plaků, tj. vyvíjet léčiva, která vykazují antiamyloidní efekt. Nadějně jsou v tomto směru kromě monoklonálních protilátek také malé molekuly se sulfonovou skupinou, konkrétně potom kyselina 3-sulfopropionová a její prekursor tramiprosát, známý též jako homotaurin. Nedávno byla zjištěna přítomnost kyseliny 3-sulfopropionové v lidském mozku a předpokládá se, že vyšší koncentrace této látky vede k větší stabilizaci A β -monomerů, díky níž je následně zabraňováno jejich oligomerizaci. Tato práce se zabývá molekulovou dynamikou pro systém A β 42-peptid ve vodě, která poskytuje záznam o přirozeném chování A β 42-peptidu. Další část je věnována vytváření směsných boxů s kyselinou 3-sulfopropionovou ve vodě a s tramiprosátem ve vodě při různém procentuálním zastoupení komponentů. Směsné boxy budou následně využity k molekulové dynamice a bude porovnáváno přirozené chování A β 42-peptidu s jeho chováním v těchto systémech.

Molekulárne mechanizmy pôsobenia M6P/IGF2 receptoru v bunkách

Bc. Klaudia Hladoníková (M2)

Školiteľ: Ing. Kamil Parkan, Ph.D.

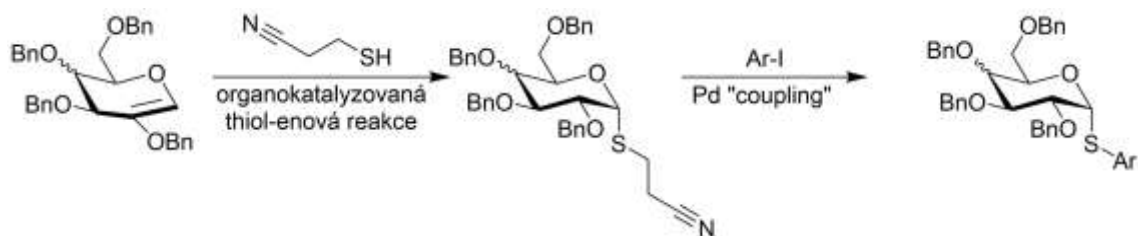
IGF2 je peptidový hormón produkovaný najviac vo fetálnom období v pečeni, svaloch, pľúcach, kostiach a CNS, kde reguluje správny vývoj, rast a diferenciáciu buniek. Jeho zvýšené hladiny podporujú tvorbu nádorov a rakoviny, zatiaľ čo jeho nízke hladiny sa podieľajú na vzniku neurologických ochorení ako je Alzheimerova choroba, Angelmanov syndróm alebo poruchy autistického spektra. Veľká časť jeho biologických účinkov sú sprostredkované jeho väzbou na inzulínové receptory a IGF1 receptor. Okrem nich sa s najvyššou afinitou viaže aj na svoj primárny receptor – M6P/IGF2 receptor, ktorý zabezpečuje jeho internalizáciu a degradáciu z krvného obehu, a tým reguluje jeho hladiny v krvi. Okrem väzobného miesta pre IGF2 obsahuje väzobné miesta aj pre mannosu-6-fosfát (M6P). Prostredníctvom nich rozpoznáva lyzozomálne enzýmy značené M6P a transportuje ich do lyzozómov, kde môžu následne tráviť a degradovať rôzne makromolekuly. Hoci sa doposiaľ zdalo, že tieto procesy nie sú schopné spustiť žiadnu signalizačnú odpoveď, postupom času sa ale zisťuje, že IGF2 predsa len nejaké biologické účinky prostredníctvom M6P/IGF2 receptora má. Vo svojej práci sa zameriavam na bunkovú signalizáciu M6P/IGF2 receptora po väzbe ako IGF2, tak aj M6P a rôznych mannosylovaných derivátov odvodených od M6P.

Inovativní přístup k α -aryl-S-glykosidům

Klára Mansfeldová (B3)

Školitel: Ing. Kamil Parkan, Ph.D.

Jelikož S-glykosidická vazba je v porovnání s vazbou O-glykosidickou stabilnější, jsou S-glykosidy zkoumány jako potenciální terapeutika. V případě α -aryl-S-galaktosidů se jedná například o inhibitory galektinů¹. Cílem této práce je regio- a stereoselektivní příprava 1,2-*cis*-S-glykosidů, které jsou díky své biologické aktivitě atraktivnější, avšak na přípravu složitější, než jejich *trans*- analogy. K jejich přípravě jsem využila organokatalyzovanou thiol-enovou reakci iniciovanou viditelným světlem a následovanou „cross-couplingovou“ Pd katalyzovanou Buchwaldovou-Hartwigovou-Migitovou reakcí². Při této reakci používám různé arylhalogenidy a sleduji odlišnosti v míře jejich reaktivity. 1. Dalhqvist, A. et. al. *Med. Chem. Comm.* 2019, 10 (6), 913-925
2. Brachet, E. et al. *Adv. Synth. Catal.* 2013, 355: 477-490.

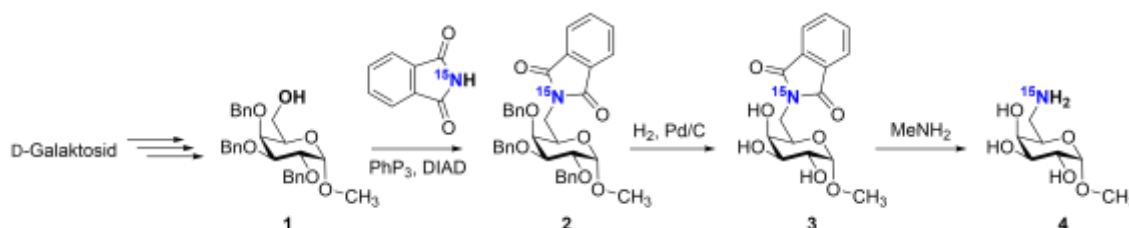


Syntéza izotopově značených ^{15}N -aminosacharidů pro NMR strukturní analýzu

Bc. Adam Rybka (M2)

Školitel: Ing. Kamil Parkan, Ph.D.

Aminosacharidy jsou hojně se vyskytující přírodní látky, které v živých organismech zastupují řadu biologicky důležitých funkcí. Kromě toho, že jsou zdrojem energie a stavebního materiálu, se také účastní specifického buněčného rozpoznávání. Sacharidové části glykoproteinů a glykolipidů jsou rozpoznávány lektiny, které řídí například interakce mezi buňkami a imunitní reakce¹. Vzhledem ke své strukturní rozmanitosti jsou sacharidy nejméně prozkoumanými biomolekulami, a proto studium jejich 3D struktury pomocí NMR spektroskopie pomůže porozumět jejich významu v organismech. Syntéza aminosacharidů se nejčastěji provádí katalytickou redukcí azidu. Nevýhoda při redukci ^{15}N -azidu však spočívá v tom, že bychom získali pouze poloviční zastoupení izotopu ^{15}N , jelikož je azid izotopově značený pouze na jednom terminálním dusíku². Proto jsme využili reakci s ^{15}N -ftalimidem, pro zavedení amino skupiny na D-galaktosid 1. Kdy nejprve byl ftalimid substituován za hydroxylovou skupinu Mitsunobovou reakcí, s následnou deprotekcí benzylových chránicích skupin a uvolnění ftalimidu za vzniku 6-aminogalaktosidu 4. (1) Ambrosi, M. et al. *Org. Biomol. Chem.* 2005, 3, 1593-1608. (2) Bae, J. et al. *Chem. Sci.* 2021, 12, 14309-14315.



Optimalizace fotokatalytické degradace MDMA z vody

Daniel Smíšek (B3)

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

3,4-methylenedioxyamfetamin (lidově extáze či MDMA) je psychostimulační látka amfetaminového typu. MDMA je spolu s dalšími stimulanty (metamfetamin, kokain) a opiáty (morfin, metadon) jednou z nejčastěji detekovaných psychoaktivních látek v povrchových vodách. Výrobou (legální i nelegální) a konzumací se MDMA a jeho metabolity dostávají do čističek odpadních vod. V čističkách není kompletně odstraněn a v koncentracích ng/l z nich pokračuje dále do povrchové vody. Pro člověka není chronická toxicita ultrastopového množství MDMA detailně známa, nicméně pro vodní organismy představuje značné riziko – negativně ovlivňuje jejich migraci, rozmnožování či příjem potravy. Jednou z možností pro efektivní odstranění organických polutantů z vody je použití nanočástic TiO_2 a UV záření, kdy dochází k rozkladu znečišťující látky až na CO_2 , H_2O a anorganické sloučeniny dusíku. V této práci byla vyvinuta UHPLC-UV metoda pro analýzu MDMA a příslušných degradačních meziproduktů. Následně byly určeny základní statistické parametry metody jako LOD, LOQ, lineární dynamický rozsah a opakovatelnost. Dále byly otestovány různé podmínky fotokatalytické degradace MDMA ve vodě (koncentrace TiO_2 , intenzita UV záření).

Optimalizace fotokatalytické degradace sildenafilu na imobilizovaném fotokatalyzátoru

Zuzana Turková (B3)

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

Sildenafil citrát je látka, která se používá primárně k léčbě erektilní dysfunkce (ED) a nejčastěji se prodává pod obchodním názvem Viagra. Funguje na principu inhibice fosfodiesterasy-5 (PDE5), která štěpí cGMP na 5'GMP. cGMP je důležitý druhý posel, který reguluje prokrvení tkání. Inhibicí PDE5 tedy nedochází k jeho štěpení a tím se prokrvení zefektivňuje. Kromě ED se sildenafil citrát využívá také k léčbě pulmonální arteriální hypertenze a syndromu dolních cest močových. S rostoucí spotřebou inhibitorů PDE5 roste i jejich koncentrace ve vodním prostředí (v řádu ng/l), kde ovlivňují přítomné živočichy a narušují tak rovnováhu ekosystému. Zároveň vzrůstá potřeba tyto látky z odpadních vod odstraňovat, přičemž klasické čistící postupy jsou v této oblasti nedostačující. Efektivním způsobem odstraňování organických polutantů je fotokatalytická degradace. Za přítomnosti UV záření dochází na fotokatalyzátoru (TiO_2) k rozkladu organických molekul za vzniku CO_2 , H_2O a anorganických sloučenin. Práce se zabývá optimalizací fotokatalytické degradace sildenafilu citrátu s cílem zefektivnit jeho odbourávání z odpadní vody. Jako fotokatalyzátor byl použit TiO_2 -imobilizovaný na skleněných destičkách, pokles koncentrace sildenafilu citrátu během reakce byl monitorován pomocí HPLC-UV.