



FAKULTA POTRAVINÁŘSKÉ
A BIOCHEMICKÉ TECHNOLOGIE
VŠCHT PRAHA

Studentská Vědecká Konference

2024

28. 11 2024

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 SEKČÍ

1. Biotechnologie I
2. Biotechnologie II
3. Biotechnologie III

SPONZOŘI

arxada

 **SHIMADZU**
Excellence in Science

 **BECKMAN
COULTER**


Pilzeňský Prazdroj

 **avantor™**

bioTch
innovative

MERCK

Biotechnologie I

MÍSTO: A111, KNIHOVNA ÚSTAVU BIOTECHNOLOGIE

KOMISE

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

Ing. Marcel Karabín, Ph. D.

Ing. Markéta Husáková

PROGRAM

09:00 zahájení

Bc. Mikhail Borisov (Mgr. 2. ročník)

Vliv technologie na analytický profil ovocných destilátů

Bc. Linda Burianová (Mgr. 2. ročník)

Fyziologická odpověď solventogenních klostridií na inhibitory odvozené od lignocelulosity

Bc. Barbora Chvátalová (Mgr. 1. ročník)

Stanovení aktivity exoribonukleasového komplexu SARS-CoV-2 a jeho inhibice

Bc. Lenka Kohoutová (Mgr. 2. ročník)

Bioaktivní alkaloidy rostliny Mitragyna speciosa

Bc. Emma Polomská (Mgr. 2. ročník)

K novým bioaktivním metabolitům s alkylprolinovým motivem prostřednictvím exprese genových klastrů a charakterizace chemické struktury

Bc. Jakub Schimmer (Mgr. 2. ročník)

Zavedení metodiky pro stanovení enzymů produkovaných mikroorganismy degradujícími polyuretany

Bc. Michal Špičák (Mgr. 2. ročník)

Příprava DHX15 s FLAG epitopem pomocí CRISPR Cas-9 technologie v HEK 293 buňkách

Bc. Jaroslav Wágner (Mgr. 2. ročník)

Rmutování tepelně předupravených škrobnatých materiálů s uměle navýšeným obsahem polyfenolů

Bc. Vladimír Záruba (Mgr. 2. ročník)

*Produkce glycerolu kvasinkami *Saccharomyces cerevisiae* za vysokého osmotického tlaku prostředí*

Stanovení aktivity exoribonukleasového komplexu SARS-CoV-2 a jeho inhibice

Bc. Barbora Chvátalová (M1)

prof. Dr. Ing. Michaela Rumlová

Značná část antivirotik užívaných proti SARS-CoV-2 (z angl. Severe Acute Respiratory Syndrom Coronavirus 2) účinkuje na bázi nukleotidových analogů. Tyto látky cílí na replikační aparát viru, kde po inkorporaci nukleotidového analogu namísto správného nukleotidu do nově syntetizovaného vlákna RNA dojde k inhibici replikace a k inaktivaci viru. V případě SARS-CoV-2 může být ale účinnost nukleotidových analogů snížena vlivem exoribonukleasové aktivity enzymu nsp14 a jeho kofaktoru nsp10. Exoribonukleasový komplex primárně zodpovídá za opravný mechanismus, kdy štěpí nesprávně zařazené nukleotidy, čímž předchází vzniku nežádoucích mutací, efektivně však může odstraňovat i nukleotidová analoga. Komplex proteinů nsp14 a nsp10 je tudíž atraktivním terapeutickým cílem pro vývoj nových antivirotik. V této práci byly nejprve optimalizovány metody pro studium inhibičních schopností vybraných látek. Po úspěšné optimalizaci metod byly vybrané látky testovány a postupně selektovány podle míry jejich inhibiční aktivity. Na závěr byla *in silico* modelována vazba látky s nejsilnějšími inhibičními schopnostmi v aktivním místě enzymu. Výsledky této práce poskytují významné podklady pro návrh nových inhibitorů s využitím derivatizace testovaných molekul, které by případně představovaly potenciální léčiva proti SARS-CoV-2 a příbuzným virům.

*Produkce glycerolu kvasinkami *Saccharomyces cerevisiae* za vysokého osmotického tlaku prostředí*

Bc. Vladimír Záruba

prof. Dr. Ing. Petra Patáková

Glycerol je surovina široce využívaná v mnoha odvětvích průmyslu, přičemž v dnešní době se získává jako vedlejší produkt při výrobě bionafty. Vzhledem k turbulentnímu vývoji na trhu s palivy je budoucnost produkce bionafty, a s ní úzce spojené produkce glycerolu, nejistá. Z těchto důvodů je snaha nalézt další cesty výroby glycerolu, přičemž jednou z možností je biotechnologická produkce. Kvasinky dokáží za podmínek vysokého osmotického tlaku prostředí tvořit glycerol, který jim slouží jako osmoprotektant. Tato práce navazuje na předchozí experimenty provedené v naší laboratoři s cílem optimalizovat proces výroby glycerolu pomocí kvasničných kmenů *Saccharomyces cerevisiae*. Vzhledem k úspěšné produkci glycerolu v bioreaktorech, až 60 g/l za vyššího osmotického tlaku (250 g/l glukosy v kombinaci s 40 g/l NaCl), se tato práce soustřeďuje na adaptaci kvasinek na osmotický tlak s cílem zkrátit lag fázi a urychlit tvorbu glycerolu. Zároveň se v práci porovnávají výsledky lihovarského a vinařského kmene *S. cerevisiae*. Za různých kombinací koncentrace glukosy a chloridu sodného byly kvasinky kultivovány aerobně na třepačce nebo v bioreaktorech s tím, že biomasa kvasinek z předchozího pokusu sloužila jako inokulum pro pokus následující.

K novým bioaktivním metabolitům s alkyprolinovým motivem prostřednictvím exprese genových klastrů a charakterizace chemické struktury

Bc. Emma Polomská (M2)

prof. Jan Masák, PhD.

Nezpochybnitelná potřeba nalezení nových farmakologicky aktivních struktur (zejména antibiotik, které by byly účinné proti multirezistentním patogenům) motivuje vědce k výzkumu v oblasti přírodních produktů. Jedním z moderních přístupů jsou metody založené na heterologní expresi genových klastrů (anglicky Biosynthetic Gene Clusters = BGCs) pro nové látky. Pomocí právě heterologní exprese se v rámci své práce pokouším získat látky spadající do skupiny derivátů 4-alkyl-L-prolinu (zkráceně APD). Tyto látky představují příklad vzácně se vyskytujícího specializovaného stavebního bloku. Již objevené deriváty tohoto charakteru vykazují různorodé účinky využitelné převážně v lékařství, jedná se totiž hlavně o antibiotika či protirakovinné látky. Jelikož jsou to sekundární metabolity, které pro život bakterie nejsou esenciální, nemusí je produkovat, dokud k tomu nemá impuls. Může se také stát, že daná biosyntetická dráha je umlčena oproti jiným důležitějším procesům, a tedy k ní v daném mikroorganismu vůbec nemusí docházet. Proto se využívá právě metody heterologní exprese, kdy pomocí amplifikace chtěných genových klastrů metodou přímého klonování drah (anglicky Direct Pathway Cloning) chci vnést tyto amplifikované úseky do vhodných vektorů, které následně pomocí inkorporace do *E.coli* a její konjugace se superhostem (z rodu bakterií *Streptomyces*) budou začleněny do genomu tohoto superhosta. V něm by k produkci těchto sekundárních metabolitů mělo docházet i bez speciálních podmínek. Cílem práce je objevit nové potenciálně využitelné látky (ať už v lékařství nebo jiném oboru) s APD motivem a analyzovat je pomocí LC-MS.

Zavedení metodiky pro stanovení enzymů produkovaných mikroorganismy degradujícími polyuretany

Bc. Jakub Schimmer (M2)

doc. Ing. Martin Halecký, Ph. D.

Rostoucí znečištění plasty představuje jednu z největších environmentálních výzev současnosti, která ohrožuje ekosystémy i lidské zdraví. Enzymaticky katalyzovaný rozklad plastů, ať již prostřednictvím mikroorganismů nebo z nich izolovaných enzymů, se jeví jako perspektivní a udržitelná alternativa ke konvenčním metodám odstraňování plastového odpadu. V této fázi projektu se zaměříme na vývoj a optimalizaci metodiky pro stanovení enzymů produkovaných mikroorganismy, které degradují polyuretany, jedny z nejrozšířenějších plastů s velmi dlouhou životností.

Než se můžeme začít zabývat samotnou produkcí enzymů a testovat kultivační podmínky mikroorganismů, je nejprve potřeba vyvinout metodu, která se stane standardem pro stanovení amidasové, esterasové, lipasové, ureasové či uretanasové aktivity enzymů. Byla testována aktivita volných extracelulárních enzymů plísňe *Fusarium solani* a kvasinky *Sporobolomyces alborubescens*. Pro analýzu v mikrotitrační destičce byla vyzkoušena plejáda chromogenních či fluorogenních substrátů v nejrůznějších podmínkách ve snaze získat co nejvyšší možnou odezvu na produkty enzymatických reakcí. Jako nejvíce slibné se momentálně jeví substráty, jež mají k funkčním skupinám napodobujícím vazby v polyuretanech připojenou funkční skupinu 4-methylumbelliferyl, která se po odštěpení v roztoku chová jako fluorescenční značka.

*Bioaktivní alkaloidy rostliny *Mitragyna speciosa**

Bc. Lenka Kohoutová (M2)

PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D

Mitragyna speciosa Korth., respektive kratom, je rostlina jihoasijského původu, která v lidském těle vyvolává řadu odlišných účinků (analgetické, antipyretické, stimulační atd.). Hlavními účinnými látkami kratomu jsou alkaloidy, jejichž působení je zprostředkováno více typy receptorů (opioidní, adrenergní, serotoninergní atd.). Celkem jich tato rostlina obsahuje více než 40, kde nejvíce prostudovanými jsou majoritní alkaloid mitragynin a jeho derivát 7-hydroxymitragynin. Předpokládá se však, že na celkový účinek kratomu mají vliv i jeho minoritní alkaloidy. Pro lepší porozumění vlivu kratomu na lidský organismus je tedy třeba jim věnovat další pozornost.

Hlavním cílem této práce byla izolace alkaloidů ze sušených kratomových listů. Ze získaného alkaloidového extraktu byly úspěšně izolovány mitragynin, speciogynin, speciociliatin a paynanthein. Takto získané látky byly dále použity jako standardy v UHPLC-MS/MS analýze kratomových produktů, kde zastoupení jednotlivých alkaloidů mezi nimi vykazovalo značnou variabilitu. Dále bude u těchto alkaloidů provedeno stanovení jejich biologické aktivity na vybraných opioidních receptorech.

Rmutování tepelně předupravených škrobnatých materiálů s uměle navýšeným obsahem polyfenolů

Bc. Jaroslav Wágner (M2)

Školitel: Ing. Lukáš Jelínek PhD.

Jedním z aktuálně nejvíce diskutovaných témat chemie polysacharidů je schopnost škrobu v průběhu mazovatění vázat do svých řetězců molekuly polyfenolů. Vznikem těchto vazeb dochází k výrazným změnám strukturních a fyzikálně chemických vlastností škrobu, které mají zásadní vliv i na výrobu sladiny. Takto upravený škrob poskytuje odlišné štěpné produkty při vystavení amylolytickým enzymům a zároveň uvolněné polyfenoly inhibují tyto enzymy, čímž opět mohou ovlivňovat způsob a míru naštěpení škrobových řetězců. Cílem této práce bylo zjistit, jak se tepelně upravený škrobnatý materiál s uměle navýšeným obsahem polyfenolů bude chovat v průběhu laboratorního rmutování, a jak jeho přídavek ovlivní celkové složení sladiny. Pozornost bude věnována zejména profilu a koncentraci kvasitelných cukrů – glukózy, fruktózy, maltózy a maltotriózy, dextrinům o délce do 10 glukózových jednotek, viskozitě a filtrovatelnosti sladiny a schopnosti polyfenolů přecházet do roztoku.

Vliv technologie na analytický profil ovocných destilátů

Bc. Mikhail Borisov (M2)

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

Tato práce se zabývá sledováním vlivu technologie kvašení na aromatický profil výsledných jablečných destilátů. Bylo připraveno několik druhů kvasů jak v laboratorním, tak i v provozním měřítku — spontánně fermentované kvasy, kvasy s přídavkem výživy a/nebo s přídavkem definovaných kultur kvasinek. Analýza chemického složení byla provedena pomocí GC-FID a ukázala, že laboratorně fermentované kvasy s přídavkem jednoho z kmenů kvasinek zvyšovaly v destilátech obsah aromatických látek, zatímco druhý kmen kvasinek koncentrace těchto látek naopak snižoval. U laboratorních vzorků s přídavkem výživy byla vyšší koncentrace aromatických látek než u vzorků bez přídavků, rozdíl mezi jednotlivými druhy výživy nebyl patrný. U destilátů vyrobených v provozním měřítku působily přídavky do kvasů opačně a došlo ke snížení celkového obsahu aromatických látek ve srovnání se spontánním kvašením.

Fyziologická odpověď solventogenních klostridií na inhibitory odvozené od lignocelulosy

Bc. Linda Burianová (M2)

doc. Ing. Barbora Branská, Ph.D.

Solventogenní klostridie představují skupinu anaerobních bakterií, jež skrze metabolickou dráhu zvanou ABE fermentace produkují cenné suroviny: aceton, butanol a ethanol. Jedním z možných substrátů je lignocelulózová biomasa, jejíž zpracování však vyžaduje drastické procesy, vytvářející vedlejší produkty, které mohou inhibovat bakteriální kulturu. V této práci byl pomocí průtokové cytometrie a kapalinové chromatografie studován fyziologický stav *Clostridium beijerinckii* NRRL B-598 při vystavení vlivu tří vybraných inhibičních sloučenin – kyseliny ferulové, kumarové a furfuralu. Byla posuzována buněčná viabilita, aktivita efluxních pump, transmembránový potenciál, využití substrátu (glukosy) a schopnost tvorby rozpouštědel. Přesto, že ve všech případech došlo k ovlivnění produkce (nejvíce v případě přítomnosti furfuralu), nebyly pozorovány letální účinky inhibitorů vůči kultuře klostridií. Nebyla ani významně ovlivněna aktivita efluxních pump. Nejvyšší dosažené koncentrace rozpouštědel v médiu byly pozorovány za podmínek působení kyseliny kumarové, a to až $4,4 \pm 0,7$ g/l. Nejmenší spotřeba glukosy byla stanovena při působení kyseliny ferulové. Z výsledků vyplývá, že vybrané inhibitory působí inhibičně spíše na produkční parametry než na klíčové vitální funkce. V další fázi budou hodnoceny změny v obsahu intracelulárních komponent a energetického stavu buňky.

Příprava DHX15 s FLAG epitopem pomocí CRISPR Cas-9 technologie v HEK 293 buňkách

Bc. Michal Špičák

Viry nejsou schopny samostatné replikace a využívají za tímto účelem aparát hostitelských buněk. Bylo zjištěno, že do replikačního procesu zástupce retrovirů, Mason-Pfizerova opičího viru (M-PMV), je zapojen protein DHX15. Jde o ATP-dependentní RNA helikasu účastnící se různých buněčných procesů, např. posttranskripčních úprav RNA. Cílem práce je připravit buněčnou linii lidských embryonálních ledvinových buněk (HEK 293), která ponese na začátku genu pro DHX15 sekvenci kódující FLAG epitop. Pro přípravu takto upravených buněk byla zvolena technologie CRISPR s využitím Cas9 proteinu značeného zeleným fluorescenčním proteinem (GFP), naváděcí RNA a donorové jednovláknové DNA nesoucí sekvenci pro FLAG epitop. Buňky HEK 293 jsou s využitím lipidových nanočástic transfekovány CRISPR-Cas9 systémem a následně na základě fluorescenčního signálu GFP sortovány průtokovou cytometrií. Klonální linie získané z vybraných buněk jsou testovány na přítomnost FLAG epitopu v proteinu FLAG-DHX15 imunochemicky. Vložení sekvence kódující FLAG epitop do genu pro DHX15 je potvrzeno PCR amplifikací a následným sekvenováním. FLAG značený protein DHX15 pak umožní identifikaci jeho interakčních partnerů pomocí imunoprecipitačních technik, což přispěje k hlubšímu pochopení jeho role v replikačním cyklu M-PMV.

Biotechnologie II

MÍSTO: A11

KOMISE

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

Ing. Markéta Kulišová, Ph.D.

Ing. Matěj Danda

PROGRAM

09:00 zahájení

Bc. Bao Ngoc Dangová (Mgr. 2. ročník)

Antimikrobiální aktivita biosyntetizovaných nanočástic vůči ESKAPE

Bc. Petr Husták (Mgr. 2. ročník)

Identifikace transformačních produktů chmelových pryskyřic ovlivňujících hořkost studeně chmelených piv

Bc. Zuzana Jalovcová (Mgr. 2. ročník)

Biochemická charakterizace a mutační analýza reverzní transkriptázy Mason-Pfizerova opičího viru

Bc. Kamila Kupková (Mgr. 2. ročník)

Vliv prostředí na biodegradační potenciál mikrobiálních konsorcií

Bc. Lukáš Kysilka (Mgr. 2. ročník)

Antibiofilmové vlastnosti biosyntetizovaných stříbrných nanočástic

Bc. Kateřina Nosková (Mgr. 2. ročník)

Stabilita a antimikrobiální účinky stříbrných nanočástic modifikovaných ligninem

Bc. Juan Osorio (Mgr. 2. ročník)

Redefining wort boiling through hydrodynamic cavitation

Bc. Petr Půlpán (Mgr. 2. ročník)

Vývoj biotechnologického prostředku pro podporu růstu rostlin

Bc Jan Šlauf (Mgr. 2. ročník)

Metabolomická odezva mozku na bakteriální infekci centrálního nervového systému

Redefining wort boiling through hydrodynamic cavitation

Bc. Juan Osorio (M2)

Cavitation has emerged as a transformative phenomenon in the search of alternatives across multiple industries, enhancing mass and heat transfer processes in applications spanning chemical processing, biomedicine, wastewater treatment, agroindustry, and food and beverage industry. The aim of this diploma thesis is to explore the application of hydrodynamic cavitation during wort boiling in the framework of beer production. The main objective of this work is to analyze how key aspects of brewing, such as hop isomerization, beer stability, and flavor profile development can be influenced through the technological application of this phenomenon. Furthermore, this thesis includes detailed insight into the mechanisms by which cavitation could improve the wort boiling process, providing a foundation for future developments in the brewing industry.

Antimikrobiální aktivita biosyntetizovaných nanočástic vůči ESKAPE

Bc. Bao Ngoc Dangová (M2)

Ing. Jana Michailidu, PhD

V dnešní době se hojně zkoumají biologické metody pro syntézu nanočástic. Tyto metody využívají rostlinné materiály nebo extrakty, bakterie, houby a řasy. Mnoho biologických metod řadíme mezi zelené syntézy, protože jsou bezpečné, levné a šetrné k životnímu prostředí. Stříbrné nanočástice mají antimikrobiální a antibakteriální účinky, které z nich činí užitečné nástroje v boji proti patogenním mikroorganismům. Tato práce se zabývá metodou, kde syntéza nanočástic stříbrna probíhá za použití odpadu ze zpracování rostlin *Cannabis sativa*. Antimikrobiální aktivita nanočástic je testovaná vůči patogenním bakteriím *Klebsiella pneumoniae* a *Enterobacter cloacae* ze skupiny ESKAPE. Zkoumán je inhibiční účinek nanočástic stříbra stanovením minimální inhibiční koncentrace, dále je sledován jejich baktericidní účinek a metabolická aktivita buněk biofilmu.

Biochemická charakterizace a mutační analýza reverzní transkriptázy Mason-Pfizerova opičího viru

Bc. Zuzana Jalovcová

Reverzní transkriptáza (RT) Mason-Pfizerova opičího viru (M-PMV) je klíčovým enzymem zodpovědným za přepis genetické informace z RNA do DNA. Skládá se ze dvou hlavních domén: reverzní transkriptázy a RNázy H. RT retrovirů se obecně vyskytuje ve formě monomeru, homodimeru nebo heterodimeru. U dobře prozkoumané RT viru lidské imunitní nedostatečnosti (HIV) víme, že se jedná o heterodimer, zatímco struktura RT M-PMV není známa.

Práce se zaměřuje na studium proteolytického štěpení RT M-PMV *in vitro* s cílem zjistit, jestli stejně jako u RT HIV dochází k odštěpení RNáza H domény. Dalším krokem bylo zavedení jednobodových mutací v pSARM vektoru ve štěpném místě mezi RT a RNázou H za účelem produkce virových částic v tkáňových buňkách. Cílem této studie je zjistit, zda tyto mutace zabrání proteáze M-PMV v proteolytickém štěpení RT během zrání virionů a jaký budou mít dopad na aktivitu RT. Aktivita reverzní transkriptázy byla stanovena pomocí metody kvantitativní PCR.

Vliv prostředí na biodegradační potenciál mikrobiálních konsorcií

Bc. Kamila Kupková (M2)

doc. Ing. Barbora Branská, Ph.D., Ing. Petra Najmanová, Ph.D.

Kontaminace ropou představuje přetrvávající environmentální problém. Jedním z možných řešení je mikrobiální degradace ropných uhlovodíků. Přítomnost těžkých kovů nicméně může značně snižovat efektivitu biodegradace. Cílem této práce je proto sledovat vliv těžkých kovů na biodegradační potenciál mikrobiálních konsorcií. Jako těžké kovy byly zvoleny nikl a kobalt, jako zdroj ropných uhlovodíků motorový olej, nafta a dodekan. Úbytek ropných uhlovodíků byl stanoven pomocí GC-MS.

Měření růstových křivek přístrojem Bioscreen byly vymezeny minimální inhibiční koncentrace vybraných kovů bez a v přítomnosti ropných uhlovodíků. Koncentrace 50 mg/l niklu a kobaltu byla inhibiční pouze pro některé kultury. V přítomnosti 0,5 obj. % nafty všechny kultury tolerovaly koncentraci 10 mg/l obou kovů, v přítomnosti 0,5 obj. % dodekanu byla dvěma kmeny a směsnou kulturou tolerována koncentrace 1 mg/l obou kovů. Data z Bioscreenu byla využita pro následné biodegradace ve větším měřítku. Metoda pro stanovení ropných uhlovodíků vycházející z normy byla upravena a optimalizována pro její aplikaci v laboratorních podmínkách VŠCHT.

Stabilita a antimikrobiální účinky stříbrných nanočástic modifikovaných ligninem

Bc. Kateřina Nosková (M2)

prof. Ing. Jan Masák, CSc.

Práce je zaměřena na hodnocení stability a antimikrobiálního účinku stříbrných nanočástic připravených s využitím ligninu izolovaného z bukového (LA-LigAgNPs) a smrkového (SA-LigAgNPs) dřeva.

Vlastnosti nanočástic byly hodnoceny pomocí UV-Vis spektrofotometrie, transmisní elektronové mikroskopie (TEM), dynamického rozptylu světla (DLS), stanovením zeta potenciálu a se zapojením hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) pro detekci uvolnění stříbrných iontů z jádra nanočástic. Stabilita nanočástic je hodnocena ve vodě a ve vybraných kultivačních médiích (DMEM, LB, TSB). Výsledky naznačují, že nanočástice jsou v LB a TSB médiu náchylnější ke tvorbě agregátů, zatímco v prostředí DMEM zůstává stabilita disperze zachována. Z hlediska stříbrného jádra lze považovat připravené nanočástice ve všech studovaných prostředí za stabilní.

Antimikrobiální účinek SA-LigAgNPs byl studován vůči vybraným kmenům *Staphylococcus aureus*. Hodnoty minimální inhibiční koncentrace byly konzistentně stanoveny na 320 mg/L. Navíc se práce věnuje hodnocení antioxidační aktivity připravených nanočástic, která je u obou typů srovnatelná s běžně používanými standardy, přičemž vyšší antioxidační aktivitu vykazovaly LA-LigAgNPs.

Antibiofilmové vlastnosti biosyntetizovaných stříbrných nanočástic

Bc. Lukáš Kysilka (M2)

Doc. Ing. Olga Matátková Ph.D.

Cílem této práce bylo prozkoumat inhibiční účinky stříbrných nanočástic na suspenzní i adhezní růst bakterie *Acinetobacter baumannii* a *Enterobacter cloacae*.

Měření vlivu stříbrných nanočástic bylo provedeno pro monodisperzní i polydisperzní nanočástice v extraktu z *Vitis vinifera* a také pro oba typy nanočástic dispergovaných v ultračisté vodě.

Měření metabolické aktivity buněk v biofilmu probíhalo resazurinovou metodou s následným měřením fluorescence při vlnových délkách 445-475 nm.

Z výsledků vyplývá, že stříbrné nanočástice ve výše uvedených koncentracích mají na suspenzní růst *A. baumannii* i *E. cloacae* inhibiční účinky a prodlužují lag-fázi, nemají však baktericidní účinky.

Byla zjištěna ale vysoká účinnost stříbrných nanočástic na adhezi *E. cloacae*, kdy bylo dosaženo inhibice až 84 ± 3 rel. %. Nanočástice se tedy ukázaly jako velmi dobrý způsob jak redukovat adhezní růst tohoto mikroorganismu.

Metabolomická odezva mozku na bakteriální infekci centrálního nervového systému

Bc. Jan Šlauf (M2)

Ing. Michailidu Jana, Ph.D.

Infekce centrálního nervového systému způsobené bakterií *Escherichia coli* představují vážný problém kvůli své schopnosti vyvolávat těžké zánětlivé reakce s možnými neurologickými následky. Tato diplomová práce se zaměřuje na analýzu metabolitů v tkáních postižených infekcí pomocí hmotnostně spektrometrického zobrazování (MSI).

Metabolity o malé molekulární hmotnosti jsou rozsáhlou skupinou molekul, které v hmotnostní spektrometrii často trpí nízkou ionizační účinností. Tato práce aplikuje přístup derivatizace, s využitím 1-(4-(aminomethyl)phenyl)pyridin-1-ium chloridu pro kovalentní značení molekul obsahujících karboxylovou skupinu (v přítomnosti peptidových spojovacích činidel) a aldehydů. Podmínky derivatizace byly optimalizovány metodou návrhu experimentu. Nízkomolekulární mastné kyseliny jsou také vizualizovány v regionech bílé a šedé hmoty použitím matrice 1,5-diaminonaftalen na úrovni mozku -0,72 mm od bregmy.

Na základě 29 vybraných metabolitů s nejlépe reprodukovatelnými výsledky měření byly určeny hodnoty optimálních podmínek pro derivatizaci do prvního stupně.

Byl pozorován významný nárůst mastných kyselin během infekce, zejména kyseliny linoleové (m/z 279.2330) ve všech regionech a kyseliny arachidonové (m/z 303.2327) v bílé hmotě a bazálních gangliích.

Identifikace transformačních produktů chmelových pryskyřic ovlivňujících hořkost studeně chmelených pív

Bc. Petr Hušťák (M2)

Ing. Marcel Karabín, Ph.D.

Použití techniky studeného chmelení, uplatňované zejména v oblasti craft-brewingu, vnáší nové aspekty do posuzování hořkosti pív. Macerováním vysokých dávek chmele za studena přechází do piva vzhledem k přítomnosti etanolu významné množství látek zvyšujících senzorickou hořkost. Porovnáváním pív chmelených za studena granulemi a čerstvými chmely stejné odrůdy, ročníku a šarže bylo zjištěno, že použití čerstvých chmelů snižuje rozdíl mezi uzančně stanovovanou hodnotou hořkosti a přesnou koncentrací iso- α -hořkých kyselin o 26 až 58 %. Ze získaných dat je rovněž patrné, že se na tomto rozdílu podílejí převážně oxidované deriváty α -kyselin, humulinony, vznikající během skladování a zpracování chmele. Tyto látky byly stanoveny v pivech chmelených granuláty oproti pivům s čerstvými chmely ve 4 až 6násobných koncentracích. Výsledky také naznačují přítomnost dalších látek s vlivem na hodnotu uzanční hořkosti. Z nich byly ve chmelových granulích prokazatelně identifikovány oxidované deriváty β -kyselin, kohulupon a hydroperoxytricyklolupon, avšak v nižších podílech než humulinony. Výsledky této práce mohou pomoci při vývoji analytických metod, které by důkladněji popisovaly příspěvek transformačních produktů chmelových pryskyřic k nárůstu senzorické hořkosti během studeného chmelení.

Vývoj biotechnologického prostředku pro podporu růstu rostlin

Bc. Petr Půlpán (M2)

prof. Ing. Petra Patáková Dr.

Cílem novodobého agroprůmyslu, s minimální možností územní expanze, se stala maximalizace produkce, šetrnější přístup k půdě a především udržitelnost. Pro co nejvyšší výnosy se na rostliny a do půdy aplikují nejrůznější chemické látky, které však mohou způsobit nemalé disturbance v okolním životním prostředí. Po ekologické stránce je mnohem vhodnější pro zvýšení rostlinných výnosů použití přírodních prostředků, včetně mikroorganismů pozitivně ovlivňující růst rostlin. Tato práce se zabývá testováním vlastností vybraných endofytických bakterií za účelem vývoje biotechnologického prostředku pro podporu růstu rostlin. Testované mikroorganismy jsou *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas brassicacearum*, *Serratia proteamaculans*, *Bacillus mycoides* a *Paenibacillus amylolyticus*. Bakterie byly podrobeny testům, z nichž nejdůležitější byly na přítomnost antifungální aktivity vůči plísni rodu *Verticillium*, dále, solubilizaci fosfátů, uvolňování amonných iontů z aminokyselin a produkce rostlinného hormonu – kyseliny indol octové. Solubilizace anorganického fosfátu byla zjištěna u bakterie *P. brassicacearum*, antifungální aktivita u *P. agglomerans*, zatímco schopnost uvolňovat amonné ionty nebo produkovat deriváty kyseliny indol octové prakticky u všech kmenů.

Biotechnologie III

MÍSTO: A12

KOMISE

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

Ing. Jana Michailidu Ph. D.

Ing. Jiří Mach

PROGRAM

09:00 zahájení

Bc. Jan Heblt (Mgr. 2. ročník)

Brewer's spent grain as a source of nutrients for cultivation of Clostridium butyricum

Bc. Kateřina Kučerová (Mgr. 2. ročník)

Stanovení tryptaminových alkaloidů a β -karbolinů ve stopkovýtusých houbách

Bc. Tomáš Laba (Mgr. 2. ročník)

Vývoj QQ systému v průběhu mikrobiální infekce a jeho dopad na signální molekuly

Bc. Daniela Nečasová (Mgr. 2. ročník)

Studium opravné aktivity replikačně-transkripčního komplexu SARS-CoV-2

Bc. Michal Nový (Mgr. 2. ročník)

Využití enzymové katalýzy pro syntézu polyuretanů

Bc. Alena Osvaldová (Mgr. 2. ročník)

Aplikace tritordea a barevných kultivarů pšenice pro výrobu sladu

Bc. Ondřej Sochor (Mgr. 2. ročník)

Studium antimikrobiálních vlastností chitosanu

Bc. Denis Vasilev (Mgr. 2. ročník)

Analýza vlivu rostlinné stravy na lidský metabolismus.

Bc. Natálie Zárybnická (Mgr. 2. ročník)

Homology eukaryotních histonových methyltransferáz v biosyntéze bakteriálních metabolitů

Homology eukaryotních histonových methyltransferáz v biosyntéze bakteriálních metabolite

Bc. Natálie Zárybnická

Pozornost této práce je upřena na protein Ivb5, homolog eukaryotních histonových lysinmethyltransferáz, u něhož se však předpokládá účast na biosyntéze nově objeveného bakteriálního metabolitu zvaného intervencin – linkosamidového antibiotika produkovaného bakteriálním kmenem *Rhodococcus* sp. 06-235-1A. Cílem práce je získání proteinu Ivb5 v dostatečné čistotě a koncentraci a následné testování možných substrátů v *in vitro* reakci s Ivb5. Produkce proteinu bylo docíleno výběrem vhodného expresního vektoru a produkčního kmene *Escherichia coli*. Při použití expresního vektoru pET42b(+) se narozdíl od pET28b(+), protein produkoval alespoň z části v rozpustné formě, použitelné pro testování funkce Ivb5. Jeho úspěšná exprese byla potvrzena pomocí SDS-PAGE. Při otestování kompetentních buněk *Escherichia coli* BL-21-CodonPlus (DE3)-BLG, umožňujících koexpresi Ivb5 s chaperony, a kompetentních buněk *Escherichia coli* BL-21-CodonPlus (DE3)-RIPL se ukázal nejlepší výtěžek u RIPL buněk. Protein Ivb5 byl následně purifikován a zakoncentrován. Ivb5 byl poté testován v reakci s látkami strukturně podobnými jeho možným substrátům. Účelem testování bylo ověření funkce Ivb5 jako methyltransferázy v biosyntéze intervencinu a určení biosyntetického kroku, ve kterém k této methylaci dochází. Reakční směsi byly analyzovány pomocí metody LC-MS. Na základě dosažených výsledků došlo k potvrzení domněnky, že Ivb5 methyloje dusík alkylprolinové stavební jednotky intervencinu a k závěru, že k methylaci dochází až po kondezaci obou intervencinových stavební jednotek, alkylprolinové a sacharidové.

Aplikace tritordea a barevných kultivarů pšenice pro výrobu sladu

Bc. Alena Osvaldová (M2)

Ing. Marcel Karabín, Ph.D.

V poslední době se vývoj v oblasti sladařství orientuje i na výrobu sladů z méně tradičních obilovin. Mezi ně patří tritordeum, kříženec pšenice a ječmene, či barevné odrůdy pšenice. Jejich použití může rozšířit nabídku pivovarů a díky zvýšenému obsahu zdraví prospěšných látek s antioxidačními účinky, reflektovat současný trend zdravého životního stylu. Pěstování tritordea navíc vyžaduje méně vláhy, a poskytuje tedy výhodu i z hlediska vyrovnání se s klimatickou změnou. V této práci byl testován potenciál tří odrůd tritordea a tří barevných kultivarů pšenice pro sladování a výrobu piva, přičemž bylo zjištěno, že obě zkoumané obiloviny jsou pro tyto účely využitelné. Extrakt u pšeničných a tritordeových sladů, 79–82 hm. % a 76–77 hm. %, byl ve srovnání s ječným sladem (83 hm. %) mírně nižší, avšak stále dostačující. Obsah FAN u alternativních obilovin poněkud varioval v závislosti na odrůdě i parametrech sladování a dosahoval 60 až 105 rel. % hodnoty pro ječný slad. Aktivita α -amylasy byla u sladů z alternativních obilovin nižší, aktivita β -amylasy naopak vyšší, což může vést při výrobě piva k nutnosti úpravy parametrů rmutování.

Studium opravné aktivity replikačně-transkripčního komplexu SARS-CoV-2

Bc. Daniela Nečasová (M2)

prof. Dr. Ing. Michaela Rumlová

Běžným cílem léčiv proti RNA virům je RNA-dependentní RNA polymeráza (RdRp) zajišťující syntézu jejich genomové RNA. V případě viru SARS-CoV-2 je RdRp součástí replikačně-transkripčního komplexu, který zahrnuje několik dalších proteinů s různou enzymovou aktivitou. Jedním z těchto enzymů je exonukleáza, která zodpovídá za korekci chybně spárovaných nukleotidů a působí tak jako nezávislý opravný faktor. Tato jedinečná schopnost koronavirů je klíčová pro replikaci jejich poměrně velké genomové RNA, může také ale přispívat k rezistenci vůči existujícím antivirotickým léčivům na bázi nukleotidových analogů. Dosud však není zcela objasněno, jakým způsobem dokáže RdRp chybu rozpoznat a poskytnout opravným mechanismům. Tento výzkum se detailně zaměřuje na specifický vliv nesprávně spárovaných nukleotidů na funkci RdRp a následný opravný mechanismus exonukleázy. Naše výsledky ukazují, že různé kombinace chybně spárovaných nukleotidů mají odlišný vliv na stabilitu RdRp komplexu i na samotnou syntézu RNA, což může mít za následek iniciaci opravné aktivity. Objasnění těchto procesů by mohlo významně přispět k vývoji nových druhů léčiv proti koronavirovým onemocněním.

Studium antimikrobiálních vlastností chitosanu

Bc. Ondřej Sochor (M2)

Prof. Ing. Pavel Dostálek, Csc.

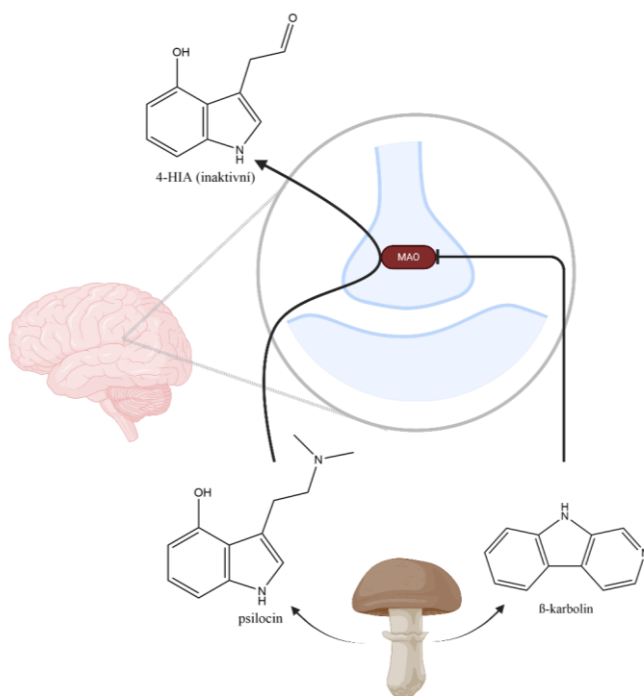
Poptávka po přírodních a biologicky odbouratelných látkách, jakožto alternativách k chemicky syntetizovaným aditivům stále roste. Jednou ze slibných alternativ k chemickým aditivům je přírodní polymer chitosan. Chitosan je biologický polymer, který se získává deacetylací z chitinu. Cílem této práce je ověření antimikrobiálních vlastností chitosanu a zhodnocení jeho možného použití v pivovarství, jakožto antimikrobiálního faktoru, pro zvýšení stability a prodloužení trvanlivosti nealkoholických a alkoholických piv. Práce se zabývá vlivem chitosanu na běžně se vyskytující kontaminující bakterie v pivovarnictví a současně testuje jeho vliv vůči produkčním kmenům kvasinek. K testování inhibičních vlastností chitosanu byly použity tři chitosany o rozdílných molekulárních hmotnostech a koncentračním rozsahu 10-1000 mg/l. Testování probíhalo při sníženém pH blízkému pivu, ale zároveň byly účinky chitosanu testovány i na hranici jeho rozpustnosti při téměř neutrálním pH 6-7. Ze získaných výsledků bylo dokázáno, že všechny testované formy chitosanu disponují antimikrobiálními vlastnostmi a dokážou do jisté míry inhibovat růst kontaminujících bakterií pivovarského průmyslu, a také ovlivňují i růst běžně používaných pivovarských kvasinek.

Stanovení tryptaminových alkaloidů a β -karbolinů ve stopkovýtrusých houbách

Bc. Kateřina Kučerová (M2)

PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.

Psychoaktivní houby, zejména z rodů lysohlávka (*Psilocybe*), vláknice (*Inocybe*) a kropenatec (*Panaeolus*), obsahují tryptaminové alkaloidy, jako jsou psilocybin, psilocin a baeocystin. Za klíčovou látku způsobující psychoaktivní efekt je považován psilocin, který v těle podléhá rozkladu pomocí monoaminooxidázy (MAO) na neaktivní metabolit 4-hydroxyindol-3-acetaldehyd (4-HIA). Nedávné výzkumy ale ukazují, že by tyto houby mohly obsahovat i indolové alkaloidy β -karboliny, které působí jako reverzní inhibitory MAO a mohou rozklad psilocinu blokovat. K prozkoumání této hypotézy byla vytvořena a optimalizována HPLC-MS metoda zaměřená na stanovení 6 tryptaminových alkaloidů a 6 β -karbolinů. Tato metoda je nyní používána k analýze více než 160 vzorků psychoaktivních hub z různých lokalit a časových období, přičemž výsledky by mohly přinést nové poznatky o výskytu β -karbolinů v psychoaktivních houbách a jejich potenciálním vlivu na účinek těchto hub v lidském těle.



Vývoj QQ systému v průběhu mikrobiální infekce a jeho dopad na signální molekuly

Bc. Tomáš Laba (M2)

doc. Ing. Irena Jarošová, Ph.D.

Během sesilního růstu G^- bakterií v biofilmu spolu jednotlivé buňky komunikují pomocí malých quorum sensing (QS) signálních molekul, mezi něž patří i taxonomicky specifické N-Acylhomoserinlaktony (AHL), které se vzájemně liší svým acylovým řetězcem. Jelikož bakteriální původci nosokomiálních infekcí vytvářejí vůči konvenčním antibiotikům velmi rezistentní biofilmy, je quorum quenching (QQ) systém a zejména jeho mechanismus průlomovým antiinfekčním agens k němuž nevzniká rezistence. Systém QQ je založený na enzymové inaktivaci QS molekul produkovaných v průběhu zahájení tvorby biofilmu, jako jednoho z hlavních faktorů virulence. Mezi tyto enzymy patří např. QQ acylasy, které jsou schopné účinně hydrolyzovat s vysokou substrátovou specifitou AHL molekuly, produkované bakteriemi. Cílem tohoto projektu je vyvinout účinný mechanismus inaktivace širšího spektra AHL molekul na základě modifikovaného enzymu penicilin-G-acylasy (PGA) za účelem potlačení růstu biofilmu a boje proti antibiotické rezistenci u AHL dependentních patogenů. V projektu jsou použity klasické mikrobiologické metody, biologické testy tvorby biofilmu a analytická metoda HPLC/MS pro detekci klíčových AHL molekul jako nástrojů virulence. V rámci práce byly také připraveny rekombinantní kmeny *E. coli* BL21DE3 nesoucí pET-28becpga plasmid s His-tag kotvou zavedenou metodou RF klonování pro následnou purifikaci modifikovaného proteinu. Projekt přináší nové možnosti v boji proti bakteriálním infekcím a antibiotické rezistenci díky účinnému narušení mechanismu tvorby biofilmu.

Využití enzymové katalýzy pro syntézu polyuretanů

Bc. Michal Nový (M2)

doc. Ing. Martin Halecký, Ph.D.

Polyuretanové pěny jsou široce používané materiály. Svá uplatnění nacházejí v automobilovém průmyslu, ve zdravotnictví, ve stavebnictví jako izolanty, jako součást nábytku, obalů či jako matrace. Jejich využití a produkce tak ve světě stále roste a z těchto důvodů se hledá cesta jejich ekologické degradace a syntézy. S pomocí enzymů je možné připravit polymery, které mohou mít unikátní vlastnosti v porovnání s polymery, které jsou připraveny klasickou syntézou za pomoci chemických katalyzátorů. Enzymaticky syntetizované polymery mohou nacházet nová uplatnění například v medicíně, kde je nežádoucí přítomnost reziduí chemických katalyzátorů nebo při vývoji nových materiálů, kterých chemickou syntézou nelze docílit například z důvodů vysokých reakčních teplot, které vedou k rozkladu reaktantů nebo k nežádoucím vedlejším reakcím, které mají negativní vliv na kvalitu finálního produktu. Enzymová syntéza tak díky nižším reakčním teplotám a specifitě reakcí otevírá cestu pro syntézu zcela nových materiálů. Její výhodou je rovněž možná imobilizace enzymů a možnost jejich opakovaného použití. Cílem této práce bylo sestavit laboratorní aparaturu, provést základní set syntéz vybraných polyolů s pomocí vybraného komerčně dostupného enzymu Novozym 435, zjistit, zda enzym se zvolenými monomery reaguje a následnou analýzou pomocí MALDI-TOF určit délku syntetizovaných řetězců.

Analýza vlivu rostlinné stravy na lidský metabolismus

Bc. Denis Vasilev (M2)

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

Veganská strava, která neobsahuje potraviny živočišného původu, je v poslední době stále populárnější. Důvodem pro přechod na veganskou stravu bývá ohled na životní prostředí, etické důvody týkající se zvířat či zdravotní důvody. Veganská dieta je asociována s lepším fyzickým zdravím, s nižším výskytem úmrtnosti na ischemickou chorobu srdeční nebo také se sníženým rizikem vzniku rakoviny. Nicméně může být doprovázena nedostatkem některých živin (železo, zinek, vitamin B12, omega-3 mastné kyseliny), které mohou vést k anémii, depresím, hormonální nerovnováze atd.

V této práci jsme se soustředili na studium metabolického profilu v séru omnivorů a veganů s mediteránní dietou (Španělsko). Necílená metabolická analýza byla prováděna pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií. Metabolické profily byly porovnány pomocí vícerozměrné a jednorozměrné statistické analýzy. Byly zjištěny signifikantní změny v některých skupinách metabolitů např. acylkarnitiny, fosfosfingolipidy či glycerofosfocholiny (u veganů), což může být důvodem sníženého příjmu stravy s vysokým podílem tuku. Zatímco u aminokyselin (tryptofan, pyroglutamin, betain) byl zjištěn jak pokles, tak i nárůst. Obecně je zaznamenávána nízká koncentrace tryptofanu u veganů ve srovnání s ostatními dietami.

*Brewer's spent grain as a source of nutrients for cultivation of *Clostridium butyricum**

Bc. Jan Heblt

Ing. Tomáš Hašek

Clostridium butyricum MIYAIRI 588 je bakterie produkující kyselinu máselnou s potenciálním probiotickým využitím. Pro její kultivaci lze využít velké množství odpadních produktů, mezi něž můžeme řadit i mláto, které je jedním z vedlejších produktů při výrobě piva. Cílem této práce bylo stanovení optimálních podmínek, za kterých je dosaženo maximálního růstu a sporulace vybraného kmenu na hydrolyzátech z pivovarského mláta. V první části práce byla stanovena schopnost sporulace této bakterie na TYA médiu s vybranými kombinacemi a koncentracemi sacharidů. Následně byl optimalizován samotný proces hydrolýzy za účelem porovnání účinnosti kyselé hydrolýzy, hydrolýzy bez přídavku cellulasového preparátu a s jejím přídavkem. Takto připravené hydrolyzáty byly analyzovány pomocí HPLC za účelem kvantifikace přítomných monosacharidů. Na závěr proběhla na vybraných hydrolyzátech s přídavkem TYA média kultivace daného kmene a vzorky byly analyzovány pro zjištění produkce kyseliny máselné. Bylo zjištěno, že při růstu na hydrolyzátech s přídavkem TYA média sporuloval a rostl kmen *Clostridium butyricum* MIYAIRI 588 méně než při kontrolní kultivaci v TYA médiu. V následující práci budou stanoveny inhibitory obsažené v hydrolyzátech a bude testován jejich vliv na sporulaci.

Ústav biochemie a mikrobiologie (320)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

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

SEZNAM SEKCI

1. Proteomika a genetika
2. Klinická biochemie
3. Interakce a funkce proteinů
4. Odpověď biologických systémů na externí podněty
5. Mikrobiologie a biochemie rostlin
6. Vývoj bioanalytických metod
7. Produkce a charakterizace biologických materiálů

SPONZOŘI - ÚSTAV BIOCHEMIE A MIKROBIOLOGIE



vesmír



Proteomika a genetika

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE:

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

Ing. Zita Holík Purkrtová, Ph.D.

Ing. Jan Sácký, Ph.D.

Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

PROGRAM

09:00 zahájení

Bc. Klára Kostelníková (M2, Ing. Gabriela Kapinusová)

Genetická detekce respiračních patogenů

Bc. Simona Kulfasová (M2, doc. Ing. Mgr. Štěpánka Kučková, Ph.D.)

Proteomické rozlišení jedlého hmyzu pomocou hmotnostnej spektrometrie MALDI-TOF

Kseniia Kushnir (B3, prof. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.)

Less is More: Minimal Alphabet for Protein Design

Bc. Eliška Moravcová (M2, prof. Ing. Ondřej Uhlík, Ph.D.)

Porovnání výsledků metod fenotypové a genetické detekce průkazu klinicky významných karbapenemáz u enterobakterií izolovaných od pacientů v Nemocnici Na Homolce

Bc. Gabriela Tůmová (M2, doc. Ing. Mgr. Štěpánka Kučková, Ph.D.)

Proteomické rozlišení jedlého hmyzu pomocí techniky LC-TIMS TOF

Bc. Monika Vargová (M2, doc. Ing. Mgr. Štěpánka Kučková, Ph.D.)

Určenie druhového pôvodu rýb podľa proteínového profilu kostí

Bc. Tereza Vernerová (M2, doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.)

Interakce molekulárního vodíku se savčími enzymy

Genetická detekce respiračních patogenů

Bc. Klára Kostelníková

M2

Školitel: Ing. Gabriela Kapinusová

V posledních letech se diagnostika respiračních onemocnění zásadně posunula zavedením genetických metod, které díky rychlé a přesné identifikaci původců infekcí výrazně zefektivnily léčbu a přispívají k efektivnímu snížení spotřeby antibiotik. Tato studie, realizovaná ve spolupráci s Nemocnicí na Homolce v Praze, analyzuje sezónní trendy šesti hlavních virových patogenů a mykoplazmat v období 2023/2024 a srovnává nemocniční data s národními statistikami. Výzkum je zaměřen na dvě skupiny pacientů přijatých na jednotky intenzivní péče (JIP): pacienty s klinickou indikací respirační infekce a vybranou testovanou skupinu screeningových vzorků od stejné skupiny pacientů. Výsledky ukazují na význam správné klinické indikace vyšetření a reálné možnosti využití metody genetické detekce pro přesnější rozlišení mezi klinicky významnou infekcí a případy, kdy detekovaný genetický materiál nesouvisí s akutním onemocněním. Správná interpretace má význam pro cílení léčby akutních respiračních infekcí (ARI).

Proteomické rozlíšenie jedlého hmyzu pomocou hmotnostnej spektrometrie MALDI-TOF

Bc. Simona Kulfasová

M2

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

Konzumácia hmyzu ľuďmi je celosvetovo rozšírená už od nepamäti, a to hlavne v Afrike, Ázii či Južnej Amerike. Mnohé druhy jedlého hmyzu obsahujú množstvo bielkovín, tukov, vitamínov a minerálov porovnateľných s bežne konzumovanými hospodárskymi zvieratami. S rastúcou svetovou populáciou a predpokladom, že do roku 2050 presiahne hranicu 9 miliárd, musia aj krajiny Západu nájsť alternatívne zdroje potravy. Ako jedným z riešení sa ponúka práve jedlý hmyz. Z dôvodu pridania jedlého hmyzu na európsky trh ho zaradila EU na zoznam tzv. nových potravín. Do dnešného dňa boli EU schválené na konzumáciu ľuďmi 4 druhy hmyzu a to múčny červ (*Tenebrio molitor*), saranča sťahovavá (*Locusta migratoria*), cvrček domáci (*Acheta domestica*) a potemník stajňový (*Alphitobius diaperinus*). Metódy na ich identifikáciu sú potrebné, aby sa overila správnosť deklarácie zloženia. Práca je zameraná na schopnosť hmotnostnej spektrometrie MALDI-TOF proteomicky rozlíšiť jednotlivé druhy jedlého hmyzu. Pred samotnou analýzou boli zistené vhodné podmienky extrakcie proteínov za účelom získania najväčšieho množstva charakteristických hodnôt m/z , ktoré povedú k samotnej identifikácii. Získaný postup bol následne aplikovaný na výrobky s obsahom jedlého hmyzu.

Minimal Alphabet for Protein Design

Kseniia Kushnir

B3

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

Designing stable proteins using a reduced amino acid alphabet is explored to determine the smallest necessary number of amino acids required for the construction of structured proteins. Using the ESMFold tool, combinations of 10 evolutionary early amino acids (Ala, Asp, Glu, Gly, Ile, Leu, Pro, Ser, Thr, Val) were systematically examined to design 100-amino-acid *de novo* proteins. All possible combinations of two to ten of these amino acids were tested, followed by the prediction of the three-dimensional structures and additional characteristics for each created protein.

This analysis indicates that sets of 10 to 8 amino acids effectively support stable α/β structures, while smaller sets yield simplified yet promising α -helical and β -rich folds, providing notable examples of structural variety. Planned experimental validation will assess the *in vivo* stability and functionality of these designed proteins, potentially offering deeper insights into protein evolution and advancing the design of proteins with customised reduced alphabets.

Porovnání výsledků metod fenotypové a genetické detekce průkazu klinicky významných karbapenemáz u enterobakterií izolovaných od pacientů v Nemocnici Na Homolce

Bc. Eliška Moravcová

M2

Školitel: Prof. Ing. Ondřej Uhlík, Ph.D.

V posledních letech je zaznamenán celosvětově alarmující nárůst výskytu gramnegativních bakterií rezistentních na karbapenemy. Multirezistentní enterobakterie často způsobují závažné nemocniční infekce spojené s vysokou morbiditou a mortalitou. Správná detekce mechanismů rezistence vůči antibiotikům v klinických vzorcích je zásadní pro cílenou léčbu kriticky nemocných pacientů. Vzorky v souboru byly získány od pacientů nemocnice Na Homolce v období 2021 až 2024 a byly vybrány izoláty enterobakterií, které měly významně sníženou citlivost ke karbapenemům. Mezi nejčastější zástupce těchto bakterií patřila *Klebsiella pneumoniae* a *Escherichia coli*. K identifikaci bakterií produkujících karbapenemázy jsou využívány testy založené na fenotypové analýze, všechny izoláty byly vyšetřeny genetickými testy odhalujícími specifické vybrané typy nejčastějších karbapenemáz. Byla hodnocena korelace mezi fenotypovou a genotypovou detekcí a výsledky byly současně navíc porovnány s výsledky získanými v Národní referenční laboratoři pro antibiotika.

Proteomické rozlišení jedlého hmyzu pomocí techniky LC-TIMS TOF

Bc. Gabriela Tůmová

M2

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

Hmyz se stává stále populárnějším zdrojem bílkovin a potraviny obsahující jedlý hmyz si rychle získávají místo na trhu. S tím však roste potřeba efektivních metod k odhalování případného falšování těchto výrobků. Cílem této práce je pomocí techniky LC-TIMS TOF nalézt charakteristické sekvence peptidů determinující jednotlivé druhy jedlého hmyzu a následně otestovat použitelnost těchto markerů k autentizaci komerčních výrobků. V práci jsou porovnávány dva způsoby přípravy vzorků deseti druhů hmyzu, mezi nimiž jsou cvrčci, sarančata, švábi, potemníci a bráněnka. První postup zahrnuje extrakci proteinů 8M močovinou s následnou redukcí a alkylací, zatímco druhý postup tyto kroky vynechává, přistupuje rovnou k přímému štěpení. V obou případech se štěpí za stejných podmínek trypsinem. Vzniklé peptidy se přečišťují reverzní fází ZipTip C18. Takto připravené vzorky budou změřeny pomocí LC-TIMS TOF a výsledky budou následně vyhodnoceny použitím databázového systému PostgreSQL za použití nástroje pgAdmin 4. Dalším krokem bude vybrat postup poskytující více charakteristických aminokyselinových sekvencí pro daný druh hmyzu a aplikovat ho na komerční výrobky.

Určenie druhového pôvodu rýb podľa proteínového profilu kostí

Bc. Monika Vargová

M2

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

Štúdium identifikácie druhového pôvodu rýb je prínosné najmä v oblasti archeológie a antropológie, kde je podľa identifikácie možné mapovať ľudské osídlenia a tiež časový postup človeka. Podľa tohto zistenia sa dá pochopiť ľudský vývoj, interakciu medzi ľuďmi, ale aj zvieratami, klímou či ekológiou. Cieľom tejto práce bolo zistiť peptidové/proteínové zloženie surových kostí vybraných rybích druhov pomocou MALDI-TOF MS alebo LC-ESI-Q-TOF MS a nájdenie peptidových markerov charakteristických pre každý analyzovaný rybí druh. Vzorky rybích kostí sa najprv zamrazili tekutým dusíkom a zhomogenizovali drvením. Nasledovala demineralizácia, pričom sa porovnávali hmotnostné spektrá demineralizovaných a nedemineralizovaných kostí a podľa toho sa zistil ďalší postup. Ďalej prebiehalo štiepenie trypsínom, pričom doba štiepenia sa tiež testovala (4h a 6h). Vzorky sa následne prečistili pomocou reverznej fázy ZipTip C18. Takto prečistené vzorky sa zmerali pomocou hmotnostnej spektrometrie MALDI-TOF. Pokračovalo sa spracovaním získaných spektier a hodnôt m/z pomocou analýzy hlavných komponent (PCA) a taktiež pomocou databázového systému PostgreSQL. Plány do budúcnosti sa zameriavajú na tepelné spracovanie rybích kostí a ich následná identifikácia podľa druhu.

Interakce molekulárního vodíku se savčími enzymy

Bc. Tereza Vernerová

M2

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

V minulosti byl vodík v lidském těle považovaný za inertní plyn bez známé funkce, jehož metabolismus je vázán pouze na střevní bakterie. Některé anaerobní bakterie mají tzv. hydrogenasy, enzymy, které jim pomáhají katalyzovat oxidaci molekulárního vodíku. Savci ale geny pro tyto enzymy nedisponují. Malé množství molekulárního vodíku se vyloučí plícemi, co se děje se zbytkem, není známo. V roce 2007 přišel obrovský průlom, když byly publikovány poznatky o jeho antioxidačních vlastnostech. Ukázalo se, že vodík dokáže selektivně reagovat s nejreaktivnějším volným kyslíkovým radikálem, totiž hydroxylovým. V návaznosti na toto zjištění byly zkoumány a dokumentovány jeho další účinky na lidský organismus, například protizánětlivé působení. Cílem této práce je pochopení mechanismu funkce molekulárního vodíku v savčích buňkách. Pomocí fluorescenční próby Amplex RedTM bylo zjištěno, že po přidání vodíkové vody k buňkám dochází k syntéze peroxidu vodíku. Dále bylo objeveno, že tuto reakci zprostředkovává i samotná křenová peroxidasa. Z toho důvodu byly vyzkoušeny i další proteiny obsahující hem (hemalbumin, katalasa) a enzymy obsahující volné železo (xantinoxidasa), které po přidání vodíkové vody vykazovaly také nárůst množství generovaného peroxidu vodíku.

Klinická biochemie

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE:

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

Ing. Tomáš Podzimek, Ph.D.

Ing. Sabina Purkrťová, Ph.D.

Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

Bc. Tereza Hovorková (M2, Ing. Martin Hill, DrSc.)

Porovnání změn v metabolismu kortizolu u mužů a žen trpících schizofrenií

Bc. Adéla Michálková (M2, Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.)

Pleiotropní účinky statinů na pankreatické nádorové buňky MIA PaCa-2

Bc. Dominika Mrázková (M2, doc. Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.)

Synergistický účinek fytoKANABINOIDŮ a TERPENŮ na lékovou rezistenci rakoviny vaječníků

Bc. Barbora Neckářová (M2, doc. Ing. Mgr. Bc. Roman Kotlín, Ph.D., MHA)

Zavedení postupu vyšetření u pacientů s vzácnými trombopatiemi

Bc. Veronika Průchová (M2, Ing. Eva Jablonská, Ph.D.)

Testování fotoprotektivních a genoprotektivních účinků extraktů z mořských řas in vitro cílené pro kožní aplikace

Bc. Viktorie Svadbová (M2, doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.)

Vliv mitochondriálně cílených chelátorů na mitofagii lidských buněk

Bc. Anna Vališová (M2, doc. Ing. Barbora Holubová, Ph.D.)

Imunoglobulin A ve slinách vrcholových sportovců

Porovnání změn v metabolismu kortizolu u mužů a žen se schizofrenií

Bc. Tereza Hovorková

M2

Školitel: Ing. Martin Hill, DrSc.

Schizofrenie je spojena s rozsáhlými biochemickými dysregulacemi, zahrnujícími hormonální nerovnováhy, kde steroidy hrají klíčovou roli. Steroidomická analýza nabízí perspektivní přístup k časně diagnostice a personalizované léčbě schizofrenie. V této studii jsme analyzovali steroidní profily 51 mužů a 29 žen se schizofrenií a 16 zdravých kontrol mužů a 11 zdravých kontrol žen (věkově odpovídající). Výsledky naznačily významné rozdíly mezi skupinami, přičemž jsme pozorovali narušené steroidní dráhy od pregnenolonu a jeho sulfátu ke kortizolu u osob se schizofrenií.

Konkrétně jsme u obou pohlaví zjistili nižší hladiny pregnenolonu, což je spojováno se zvýšenou sulfatací pregnenolonu nebo jeho sníženou desulfatací. Výraznější pohlavní odlišnost byla nalezena v přeměně 17-hydroxypregnenolonu na 17-hydroxyprogesteron. Zatímco u žen se schizofrenií byla tato konverze mírně zvýšena, u mužů se schizofrenií byla naopak znatelně snížena, což u posledně jmenovaných pacientů naznačuje pohlavně specifickou modulaci aktivity enzymu CYP11B1.

Poměry steroidů dále odhalily dva kompenzační mechanismy zahrnující zvýšenou konverzi pregnenolonu a jeho sulfátu na jejich 17-hydroxyderiváty a sníženou konverzi kortizolu na kortizon, společnou pro obě pohlaví. Tyto protiregulační procesy mohou sice udržovat bazální hladiny kortizolu, avšak nemusí zajistit adekvátní odpověď na stresové podněty.



„Velké věci se dělají řadou malých věcí, které se spojily.“ — Vincent Van Gogh.

Pleiotropní účinky statinů na pankreatické nádorové buňky MIA PaCa-2

Bc. Adéla Michálková

M2

Školitel: Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.

Statiny jsou látky využívané primárně k léčbě hypercholesterolémie a kardiovaskulárních onemocnění. Kromě toho vykazují tyto látky pleiotropní účinky, jako je snížení zánětlivé a imunitní odpovědi a protinádorovou aktivitou. Ty jsou dány především inhibicí 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-koenzym A reduktázy, což brání správné prenylaci malých proteinů vázajících guanin nukleotidy. Pokud nejsou tyto proteiny v buňce správně prenylovány, dochází k narušení aktinového cytoskeletu a následně také tvorby lamelipodií a filopodií, které jsou stěžejní pro buněčnou migraci. V případě nádorových onemocnění je migrace buněk esenciální pro tvorbu metastáz, jejichž výskyt výrazně zhoršuje prognózu onemocnění. V této práci jsme proto zkoumali protinádorové účinky 8 známých statinů na lidské buňky nádoru pankreatu MIA PaCa-2 rostoucí v monovrstvě i ve formě sféroidů. Zaměřili jsme se na studium vlivu statinů na uspořádání F-aktinu a migraci buněk, a to pomocí fluorescenční mikroskopie a metody „hojení ran“, v tomto pořadí. Největší změny v cytoskeletu byly sledovány po ovlivnění cerivastatinem a pitavastatinem. Tyto dva statiny spolu se simvastatinem také nejúčinněji zpomalovaly migraci buněk MiaPaCa-2. Na základě těchto dat usuzujeme, že by tyto tři statiny mohly být účinné pro inhibici metastázování pankreatických nádorových buněk MIA PaCa-2, nicméně tento předpoklad bude nutné dále ověřit.

Synergistický účinek fytoKANabinoidů a terpenů na lékovou rezistenci rakoviny vaječníků

Bc. Dominika Mrázková

M2

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

Práce se zaměřuje na studium synergického účinku fytoKANabinoidů a terpenů na rezistentní buňky ovariálních nádorů s cílem zvýšit účinnost chemoterapeutika doxorubicinu. Efektivitu chemoterapie výrazně omezují mechanismy mnohočetné lékové rezistence, především transmembránová pumpa P-glykoprotein zodpovědná za eflux léčiv z buňky. Hypotéza této práce předpokládá, že fytoKANabinoidy mohou snižovat expresi genu *ABCB1* kódujícího P-glykoprotein, zatímco terpeny mohou přímo interagovat s tímto proteinem v membráně. Studie zahrnuje testování toxicity vybraných fytoKANabinoidů a terpenů, porovnání účinku samotného doxorubicinu na viabilitu buněk oproti jeho kombinaci s těmito látkami, screening kombinací látek s potenciálním synergistickým vlivem na zvýšení citlivosti nádorových buněk vůči doxorubicinu a podrobnější zkoumání mechanismů účinku, například prostřednictvím rhodaminového testu.

Zavedení postupu vyšetření u pacientů s vzácnými trombopatiemi

Bc. Barbora Neckářová

M2

Školitel: doc. Ing. Mgr. Bc. Roman Kotlín, Ph.D., MHA

Vrozené trombopatie jsou vzácnou skupinou onemocnění s širokým spektrem závažnosti krvácivých projevů. Závažné krvácení se často projevuje až v případě invazivního zákroku. Přesnější stanovení a pochopení poruchy funkce destiček a jejího mechanismu umožňuje cílenou léčbu, neexistuje však standardizovaný metodický postup. Běžně se využívá několik metod pro stanovení funkce krevních destiček jako je PFA (analyzátor funkce krevních destiček), agregometrie optická nebo z plné krve, průtoková cytometrie. Tyto metody jsou však schopny zachytit jen část trombopatií.

Cílem této práce je zavedení postupu vyšetření pro diagnostiku trombopatií. A to od běžných vyšetření s vyloučením jiných, častěji se vyskytujících, krvácivých poruch (VWCH, hemofilie), až po nové metody podle mezinárodních doporučení. Metodika zahrnuje zpracování destiček, stanovení jejich funkce agregační metodou, sledování aktivace krevních destiček a produktů aktivace metodou HPLC, sledování struktury destiček metodou fluorescenční a elektronové mikroskopie a analýzu povrchových glykoproteinů destiček pomocí průtokové cytometrie. Výsledky budou porovnány s výsledky sekvenace destičkových genů metodou NGS. U pacientů se záměnami (variantami) neznámého významu v destičkových genech bude následovat příprava destičkové cDNA k verifikaci/vyloučení patogenity varianty.

Testování fotoprotektivních a genoprotektivních účinků extraktů z mořských řas in vitro cílené pro kožní aplikace

Jméno: Bc. Veronika Průchová

M2

Školitel: Ing. Eva Jablonská, Ph.D.

Vzrůstající poptávka po přírodních UV filtrech směřuje pozornost k mořským řasám, jejichž složky vykazují fotoprotektivní a potenciálně genoprotektivní účinky vhodné pro kožní aplikace. Přestože byly fotoprotektivní vlastnosti a obsah mykosporinu podobných aminokyselin (MAAs) popsány u řady mořských řas, námi vybrané druhy byly doposud málo prozkoumány. MAAs absorbují UV záření, což naznačuje jejich schopnost snižovat poškození DNA.

Cílem je proto vyhodnotit fotoprotektivní účinky dodaných extraktů řas na lidských keratinocytech (buněčné linii HaCaT). Byly testovány čtyři druhy řas, po třech způsobech extrakce—dvou metanolových (10 % a 100 %) a jedné dichlormethanové. Následovat bude testování jejich genoprotektivního potenciálu.

Fotoprotektivita extraktů byla hodnocena *in vitro* na buněčné linii HaCaT pomocí resazurinového testu po expozici UV záření. Současně byla na této linii zavedena detekce fosforylovaného H2AX, k měření poškození DNA na základě fosforylace histonu H2AX v místech dvouřetězcových zlomů. Nejlepší fotoprotektivní účinky prokázaly 10% metanolové extrakty, které chránily v UVA i UVB spektru, zatímco ostatní extrakty pouze v UVB oblasti. Další práce se zaměří na genoprotektivní účinky po expozici UV záření a rozšíření testování na lidských dermálních fibroblastech.

Vliv mitochondriálně cílených chelátorů na mitofagii lidských buněk

Bc. Viktorie Svadbová

M2

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

Mitochondrie jsou organely, které se podílejí na dějích kritických pro zachování životaschopnosti buňky. Díky své vysoké metabolické aktivitě jsou neustále vystavovány oxidačnímu stresu, který vede k jejich nadměrnému poškození. Přítomnost takto poškozených organel v buňce přispívá k rozvoji mnoha patologických stavů, jako jsou neurodegenerativní poruchy, rakovina či kardiovaskulární onemocnění, proto je nutné je neustále eliminovat a nahrazovat novými. Degradaci nefunkčních či nadbytečných mitochondrií zajišťuje selektivní forma autofagie zvaná mitofagie. Jde o evolučně konzervovaný proces, který je nezbytný pro udržování buněčné homeostázy. Jedním z faktorů, který přispívá k rozvoji oxidačního stresu v buňce je přítomnost iontů různých kovů, například železa či mědi. Cílem této práce je zjistit, jestli chelátory cílené do mitochondrií aktivují mitofagii u kontrolní linie MRC-5 a nádorové linie PC-3. Mitochondriální morfologie byla sledována konfokální mikroskopií a proteinové markery mitofagie pomocí Western blotu s imunodetekcí.

Imunoglobulin A ve slinách vrcholových sportovců

Bc. Anna Vališová

M2

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

Práce se zabývá studiem hladiny imunoglobulinu A ve slinách vrcholových sportovců. Zaměřuje se na sledování hodnot během výcvikových kurzů. Předmětem zájmu je též sledování sportovců v delším časovém horizontu v průběhu různých fází tréninku.

Interakce a funkce proteinů

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE:

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

Ing. Ludmila Karamonová, Ph.D.

Ing. Vladimíra Pavlíčková Svobodová, Ph.D.

Ing. Jáchym Šuman, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

Bc. Barbora Bajarová (M2, Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.)

Vliv aminokyselinových záměn v matrixovém proteinu M-PMV na maturaci viru

Bc. Markéta Brodinová (M2, Prof. Michaela Rumlová, PhD)

Interakce buněčného proteinu DHX15 s G-patch doménou a 3'oblastí genomové retrovirové RNA

Bc. Kristina Knopfová (M2, doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.)

Úloha hydrofilního N-konce v regulaci lidského Na⁺/H⁺ antiporteru NHA2

Bc. Tereza Najmanová (M2, doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.)

Vliv střídavého magnetického pole na signální dráhy savčích buněk

Bc. Josef Podlaha (M2, prof. Ing. Pavel Kotrba, Ph.D.)

Transportéry rodiny NRAMP jako možní kandidáti pro příjem kadmia u A. muscaria

Bc. Tomáš Sanislo (M2, Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.)

Glow with the Flow: Engineering a Chloride-Sensitive Glycine Receptor-EGFP Chimera

Bc. Eva Vogelová (M2, prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.)

Role buněčné Nup358/RanBP2 v replikačním cyklu viru hepatitidy B

Vliv aminokyselinových záměn v matrixovém proteinu M-PMV na maturaci viru

Bc. Barbora Bajerová

M2

Školitel: Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

Životní cyklus retrovirů se dá rozdělit na dvě fáze, časnou a pozdní. V pozdní fázi dochází k produkci virových polyproteinových prekurzorů, ze kterých se následně skládá virová částice, dále dochází k jejímu transportu k buněčné membráně, pučení a následné maturaci. Během maturace dochází ke štěpení virového polyproteinového prekurzoru virovou proteázou, což způsobuje významné morfologické změny částice a vzniká zralá virová částice. U Masonova-Pfizerova opičího viru (M-PMV) hraje v interakci virové částice s cytoplazmatickou membránou roli N-koncová doména polyproteinu Gag, matrixový protein (MA), který je myristoylován. Změna konformace MA po interakci s membránou, způsobená myristoylovým přepnutím, rozvolní strukturu nejbližšího štěpného místa a následně může dojít ke štěpení tohoto místa virovou proteázou. Pro studium vlivu myristoylového přepnutí na maturaci viru byly připraveny vektory pro produkci neinfekčních virových částic s aminokyselinovými záměnami ovlivňujícími myristoylaci MA, myristoylové přepnutí a blokujícími odštěpení MA z Gag. Neinfekční virové částice M-PMV byly produkovány *in vivo*, izolovány a následně byl analyzován vliv testovaných aminokyselinových záměn na maturaci viru.

Interakce buněčného proteinu DHX15 s G-patch doménou a 3'oblastí genomové retrovirové RNA

Bc. Markéta Brodinová

M2

Školitel: Prof. Michaela Rumlová, PhD

DHX15 je RNA helikasa rozplétající dsRNA pomocí hydrolýzy ATP, která pro zvýšení své aktivity i substrátové specifity musí interagovat s G-patch doménou (GPD) určitých proteinů. Byla popsána interakce DHX15 s GPD buněčného faktoru biogeneze ribosomů NKRF, která silně zvýšila ATPasovou aktivitu studovaného enzymu. My jsme v rámci studia této interakce dále otestovali vliv GPD přítomné v protease viru M-PMV na aktivitu DHX15 a zaznamenali jsme ještě markantnější zvýšení helikasové aktivity v porovnání s GPD NKRF. Dále jsme v rámci tohoto projektu studovali interakci DHX15 s 3'úsekem RNA viru M-PMV (CTE), která již byla detekována *in vivo* pomocí PAR-CLIP experimentu. Nejdříve jsme dokázali, že DHX15 potřebuje GPD nejen pro rozplétání substrátu, ale také k jeho navázání. Byla zkoumána interakce DHX15 a CTE v přítomnosti M-PMV proteasy i bez ní pomocí metody elektroforetického posunu v polyakrylamidovém gelu (EMSA), kdy bez kofaktoru nebyla pozorována žádná vazba helikasy na RNA. Na závěr byla pro vyloučení nespecifické vazby helikasy na RNA provedena EMSA pro DHX15 a CTE, které neobsahovalo předpokládané vazebné místo pro DHX15, přičemž nebyla pozorována téměř žádná interakce.

Úloha hydrofilního N-konce v regulaci lidského Na^+/H^+ antiporteru NHA2

Bc. Kristina Knopfová

M3

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

Konzultantka: Ing. Olga Zimmermannová, Ph.D.

Lidský Na^+/H^+ antiporter NHA2 hraje důležitou roli v udržování homeostáze monovalentních iontů. V těle ho najdeme například v distálních tubulech, osteoklastech nebo v β -buňkách slinivky břišní. Jedná se o transmembránový protein, který vyměňuje sodné a lithné kationty za H^+ . Jeho dysfunkce je spojována mimo jiné s hypertenzí nebo s poruchou sekrece inzulinu. Pomocí cryoEM byla objasněna struktura transmembránové části proteinu, avšak o struktuře a funkci jeho hydrofilních konců je známo jen málo. Dosavadní výzkum ukazuje, že zkrácení N-konce zvyšuje jeho transportní aktivitu. V této práci jsme studovali lidský NHA2 pomocí jeho exprese v modelovém eukaryotním organismu *Saccharomyces cerevisiae* a hledali jsme konkrétní aminokyselinová residua zodpovědná za regulaci aktivity antiporteru. Byly vytvořeny plasmidy pro expresi různých variant NHA2 se změnami v aminokyselinovém složení v hydrofilním N-konci a byl studován vliv zavedených mutací na transportní vlastnosti, lokalizaci a stabilitu proteinu. Analýza odhalila existenci dvou regulačních oblastí v N-konci NHA2, jejichž složení ovlivňuje buď stabilitu proteinu nebo jeho transportní aktivitu. Získané výsledky v budoucnu poslouží k pochopení molekulárních mechanismů zapojených do regulace iontové homeostáze v lidských buňkách.

Vliv střídavého magnetického pole na signální dráhy savčích buněk

Bc. Tereza Najmanová

M2

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

Pozitivní účinky malých dávek fyzikálních podnětů – dnes nazývaných fyzioterapie – jsou známy už dlouhá staletí. Ačkoliv je dnes fyzioterapie běžnou součástí moderní medicíny, doposud je její působení na buněčné úrovni víceméně neobjasněné. Jednou z využívaných technik je magnetoterapie. Ta je často aplikována jako doplňková terapie při léčbě pohybového aparátu nebo v pooperačních stavech k urychlení regenerace. Cílem této práce bylo zjistit, zdali magnetoterapie působí na savčí buňky skrze indukci mírného oxidačního stresu, který následně stimuluje protizánětlivé a stresové signální dráhy. Tento jev se nazývá mitohormeze. Leukemické buňky myších makrofágů (RAW 264.7) byly vystaveny střídavému magnetickému poli (AMF) o frekvenci 25 Hz s indukcí 40 mT po dobu 30 minut. Následně byla pomocí fluorescenčních sond měřena produkce reaktivních kyslíkových sloučenin a mitochondriální membránový potenciál. Zánětlivá signalizace byla hodnocena pomocí produkce cytokinu TNF α a oxidu dusnatého. Transkripce stresových genů byla hodnocena pomocí qRT-PCR. Naše výsledky neukázaly na indukci mitohormeze pomocí AMF.

Transportéry rodiny NRAMP jako možní kandidáti pro příjem kadmia u A. muscaria

Bc. Josef Podlaha

M2

Školitel: prof. Ing. Pavel Kotrba, Ph.D.

Schopnost hub třídy *Agaricomycetes* akumulovat řadu těžkých kovů je dobře známa. Kadmium je v plodnicích běžně nalézáno v koncentracích jednotek a u akumulátorů desítek či stovek mg.kg^{-1} . Transportéry pro příjem Cd do buněk mycelií však doposud nejsou známy. Cílem práce je posoudit, zda *Amanita muscaria*, která patří mezi ekologicky významné akumulátory Cd, může pro příjem Cd vyžít transportér rodiny NRAMP. Volba NRAMP vychází ze skutečnosti, že NRAMP popsán u rostlin preferují pro transport lehčí izotopy Cd, jejichž přednostní akumulace byla pozorována i u *A. muscaria*. Homologním klonováním byly z mRNA *A. muscaria* amplifikovány cDNA kódující dvě varianty potenciálních AmNRAMP. Sekvence predikovaných AmNRAMP vykazují charakteristické znaky NRAMP s primární specifitou pro transport Mn. Pro prověření spektra relevantních substrátů pro transport (iontů kovů Mn^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} a Cd^{2+}) byly AmNRAMP exprimovány v modelových kmenech *S. cerevisiae*. Výsledky naznačují, že obě varianty AmNRAMP jsou vedle patrně primárního Mn^{2+} schopny pro transport rozpoznávat i Cd^{2+} , nikoli však Zn^{2+} a Fe^{2+} . Další studie budou cíleny zejména na identifikaci rozdílů mezi variantami AmNRAMP, získání genomových sekvencí a zjištění korelace mezi mírou exprese AmNRAMP a akumulací Cd v myceliích *A. muscaria*.

Glow with the Flow: Engineering a Chloride-Sensitive Glycine Receptor-EGFP Chimera

Bc. Tomáš Sanislo

M2

Školitel: Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

The rat glycine receptor subunit alpha-3 forms a chloride ion channel that plays a crucial role in inhibitory neurotransmission, requiring the formation of a homopentamer to function properly. This study focuses on engineering a chimeric version of this receptor by fusing it with ClopHensor, a chloride-sensitive fluorescent protein composed of a mutated EGFP and DsRedm. To ensure that the chimeric receptor maintained the ability to form a functional pentamer, its structure was modeled using AlphaFold3. The construct was then successfully cloned into plasmids via Gibson Assembly. After transfection into HEK293T cells, fluorescence imaging confirmed correct membrane localization. We further utilized a membrane potential-sensitive probe to verify the receptor's pentamer formation. Additional experiments are planned to confirm the response of EGFP to increasing intracellular chloride ion concentrations, providing a functional readout. Future work aims to establish a stable cell line expressing the chimera to enable further studies on neural glycine receptor function and regulation.

Role buněčné Nup358/RanBP2 v replikačním cyklu viru hepatitidy B

Bc. Eva Vogelová

M2

Školitel: prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.

Virus hepatitidy B (HBV) z čeledě *Hepadnaviridae* je obalený částečně dvouvláknový DNA virus. HBV způsobuje akutní i chronické infekce, které mohou vést až k cirhóze a hepatocelulárnímu karcinomu. HBV core protein (HBc) je malý 21 kDa protein, který má schopnost složit se do podoby virového core. HBc se účastní téměř všech fází životního cyklu HBV. Má schopnost vázat se na virovou DNA a podílí se na regulaci reverzní transkripce. Bylo také zjištěno, že HBc interaguje s mnoha hostitelskými proteiny. Nup358/RanBP2 je neobvykle velký protein (358 kDa), který je součástí cytoplasmatických filament jaderného póru. Účastní se transportu, váže Ran a slouží také jako E3 SUMO ligasa. Tento protein byl identifikován pomocí hmotnostní spektrometrie jako možný interakční partner core proteinu. Teoreticky může interakce HBc s RanBP2 probíhat na několika úrovních: během importu do jádra, při jaderném exportu a také během maturace viru. Dosavadní výsledky ko-imunoprecipitace HBc a RanBP2 potvrzují hypotézu, že RanBP2 skutečně interaguje s core proteinem HBV. Napříč výsledky různých analýz silencingu RanBP2 byl pozorován shodný trend snížení množství viru v buňkách s umlčeným genem.

Odpověď biologických systémů na externí podněty

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE:

doc. Ing. Jan Lipov, Ph.D. (předseda)

Ing. Eva Jablonská, Ph.D.

Ing. Jiří Šantrůček, Ph.D.

Ing. Eva Benešová, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

Bc. Eliška Bernardová (M2, Ing. Simona Lencová Ph.D.)

Vliv grafenových materiálů na bakteriální růst a tvorbu biofilm

Bc. Maksym Bilozerskyi (M2, prof. Ing. Kateřina Demnerová, CSc)

Studium interakcí nanokompozitů na bázi stříbra a nanodiamantu s mikroorganismy

Bc. Nikola Hatová (M2, Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.)

*Antimikrobiální účinky vybraných přírodních látek na bakterie rodu *Staphylococcus* samostatně i v kombinaci s nanomateriály*

Bc. Andrea Heřtová (M2, doc. Ing. Hana Stiborová, Ph.D.)

Vliv mikropolutantů na složení endofytní a půdní mikrobioty

Bc. Lucie Hrabovská (M2, doc. Dr. Ing. Zuzana Novotná)

Vliv stříbrných nanočástic a iontů na akumulaci kalosy v různých částech rostliny

Bc. Kateřina Navrátilová (M2, Ing. Simona Lencová, Ph.D.)

Vliv přírodních struktur na adhezi a růst bakteriálních buněk

Bc. Denisa Pineckerová (M2, doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.)

Testování toxicity selenových nanočástic in vitro

Vliv grafenových materiálů na bakteriální růst a tvorbu biofilmu

Bc. Eliška Bernardová

M2

Školitel: Ing. Simona Lencová Ph.D.

Grafen, monovrstva uhlíku uspořádaná do hexagonální mřížky, disponuje jedinečnými vlastnostmi, jako je pevnost, lehkost nebo propustnost světla, díky nimž nachází uplatnění v řadě odvětví. V posledních letech jsou zkoumány potenciální antimikrobiální účinky grafenových nanočástic. Jako slibné se také jeví jejich využití mimo jiné ve stavebnictví, kde mohou sloužit jako aditiva cementu a dalších materiálů, dodávající lepší mechanické vlastnosti a vyšší odolnost vůči mikrobiální degradaci.

Cílem práce bylo zjistit, jak grafenové deriváty, jako je grafenoxid, fluorografen, grafen dopovaný sulfidem molybdeničitým, a samotný grafen ovlivňují růst bakterií a tvorbu biofilmu. Výsledky ukázaly, že zatímco růst testovaných modelových bakterií *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus* nebyl výrazně ovlivněn, tvorba biofilmu byla v některých případech grafenovými deriváty významně potlačena. Nejvýraznější inhibici tvorby biofilmu vykazoval grafenoxid u *Escherichia coli*, dosahující až 100% inhibice.

Vzhledem k slibným výsledkům antibiofilmové aktivity budou uvedené grafenové nanočástice použity pro výrobu kompozitů z hořčnatého cementu a dále testovány s cílem ověřit jejich vliv na mikroorganismy.

Studium interakcí nanokompozitů na bázi stříbra a nanodiamantu s mikroorganismy

Bc. Maksym Bilozerskyi

M2

Školitel: prof. Ing. Kateřina Demnerová, CSc.

Antibiotická rezistence u mikrobiálních kmenů se stala celosvětovým problémem, který ohrožuje nejen veřejné zdraví, ale také představuje velkou výzvu pro farmaceutický průmysl. V reakci na tuto situaci vědci zkoumají inovativní nanokompozity na bázi nanodiamantů a stříbra, které mohou působit antibakteriálně a zároveň by mohly nalézt uplatnění v oblasti biosenzorů a při cíleném podání léků. V této studii byly analyzovány hydrogenované nanokompozity různých velikostí, a to jak s přídavkem stříbra, tak bez něj. Krátkodobé pokusy na vybraných gram-pozitivních a gram-negativních bakteriích ukázaly, že hydrogenovaný kompozit obsahující stříbro má významné inhibiční účinky již při koncentraci 0,1 mg/ml. Naopak, kyslíkem obohacené kompozity neprokázaly žádnou významnou inhibiční aktivitu. Studie se dále zaměřila na vztahy mezi antibakteriální účinností, stabilitou nanokompozitů a velikostí částic, přičemž k těmto analýzám byly využity metody DLS a AAS. Do budoucna se plánuje podrobněji zkoumat mechanismy antibakteriální aktivity, zlepšit stabilitu těchto materiálů v různých prostředích a přesněji určit minimální inhibiční koncentrace (MIC) a vliv nižších dávek na růst bakterií.

Antimikrobiální účinky vybraných přírodních látek na bakterie rodu Staphylococcus samostatně i v kombinaci s nanomateriály

Bc. Nikola Hatová

M2

Školitel: Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

Jedním z nadějných přístupů v boji proti bakteriálním infekcím je využití nanomateriálů. Tyto materiály se vyznačují různými morfologickými a fyzikálně-chemickými vlastnostmi, které mohou ovlivnit jejich antimikrobiální účinnost. Cílem této práce je hodnotit efekt několika kombinací nanomateriálů a přírodních antimikrobiálních látek na bakterie rodu *Staphylococcus*, konkrétně *S. aureus* a *S. epidermidis*. Testovány byly účinky extraktů ze zeleného čaje, rozmarýnu, kyseliny mléčné, kyseliny citronové a kofeinu, a to jak samostatně, tak v kombinaci s nanomateriály z polykaprolaktonu (PCL 45, PCL 80) a polyvinylalkoholu (PVA). Použitými metodami byly disková difúzní metoda a stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC) v kapalném prostředí. MIC pro extrakt ze zeleného čaje se pohybovala v rozmezí 1,25-2,5 mg. Dále je zkoumána schopnost nanomateriálů ovlivnit tvorbu bakteriálního biofilmu, a je plánováno sledování transkripce s cílem posoudit potenciální vliv na vybrané virulenční faktory.

Vliv mikropolutantů na složení endofytní a půdní mikrobioty

Bc. Andrea Heřtová

M2

Školitel: doc. Ing. Hana Stiborová, Ph.D.

Mikropolutanty se vyskytují v životním prostředí ve velmi nízkých koncentracích, přesto mohou významně ovlivňovat půdní ekosystém. Problém těchto látek spočívá v jejich biologické aktivitě, schopnosti perzistovat ve vodním prostředí a v nedostatečné eliminaci v čistírnách odpadních vod. Tyto kontaminanty se při zavlažování zemědělských plodin mohou dostávat z vodních toků prostřednictvím transpiračního proudu až do plodů rostliny. Cílem této práce je sledovat vliv směsi mikropolutantů ve speciálních tříkomentových rhizoboxových systémech na půdní mikrobiotu a endofytní populace cuket, a zároveň detekovat případný transfer, degradaci či ovlivnění příjmu těchto polutantů rostlinou. V experimentu byla do půdy přidána směs kontaminantů (léčiv, per- a polyfluorovaných látek a ftalátů) a u části rostlin byla provedena inokulace arbuskulární mykorhizní houbou *Rhizophagus irregularis*, která by mohla ovlivnit transport polutantů. Z půdy a kořenů cuket byla izolována DNA a následně byly pomocí PCR připraveny amplikony pro 16S rRNA gen a ITS oblast pro sekvenování metodou Illumina MiSeq. Na základě předběžných výsledků nebyl zjištěn vliv mikropolutantů na diverzitu a složení mikrobiálních populací. Na České zemědělské univerzitě budou analyzovány obsahy polutantů v půdě a v rostlinách.

Vliv stříbrných nanočástic a iontů na akumulaci kalosy v různých částech rostliny

Bc. Lucie Hrabovská

M2

Školitel: doc. Dr. Ing. Zuzana Novotná

Nanočástice se v současnosti stávají stále populárnějšími a jejich potenciál se uplatňuje v mnoha oblastech vědy a techniky, jako je zdravotnictví, energetika nebo kosmetický, chemický či elektrotechnický průmysl. Využití nanočástic v různých průmyslových sektorech však přispívá k jejich uvolňování do životního prostředí, což představuje značné riziko pro všechny organismy, včetně rostlin a lidí. Ve vodných roztocích navíc dochází u stříbrných nanočástic k uvolňování iontů stříbra z jejich povrchu, což je další způsob, jak může docházet k ovlivnění růstu, metabolismu a vývoji rostliny. Tato práce byla zaměřena na sledování vlivu stříbrných nanočástic a iontů na akumulaci kalosy v *Arabidopsis thaliana*. Pětidenní rostliny byly ošetřeny roztokem stříbrných nanočástic (AgNPs) či iontů a po 24, 48 nebo 72 h růstu v kapilárním systému umístěném v růstové komoře byly fixovány a obarveny anilinovou modří pro vizualizaci kalosy, která byla sledována v kotyledonu, hypokotylu a v kořeni prostřednictvím konfokální mikroskopie. K největší akumulaci kalosy docházelo po 72h ošetření AgNPs v oblasti přechodu hypokotylu a kořene oproti ostatním studovaným částem rostliny, což ukazuje, že by tato oblast mohla zastávat funkci mechanické bariéry zamezující prostupu nanočástic dále do těla rostliny.

Vliv přírodních struktur na adhezi a růst bakteriálních buněk

Bc. Kateřina Navrátilová

M2

Školitel: Ing. Simona Lencová, Ph.D.

Přírodní materiály s unikátními strukturami jsou slibnou inspirací pro vývoj syntetických materiálů, aplikovatelných např. v tkáňovém inženýrství. Povrchové struktury, vyskytující se na křídlech hmyzu či rostlinách, mohou inhibovat růst patogenních bakterií, jež lze potenciálně využít k vývoji materiálů bez potřeby úpravy antimikrobiálními látkami. Cílem této práce je zkoumání vlivu povrchů přírodních struktur na adhezi a růst zástupců bakteriálních druhů *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*. Různorodost struktur vybraných materiálů, vzorků okvětních lístků růže šípkové a hadí kůže s ostrými hroty na povrchu šupin, byla ověřena pomocí skenovací elektronové mikroskopie (SEM). Vzorky byly následně testovány v souladu s cílem práce, a to jak kvantitativně pomocí stanovení KTJ/cm^2 , tak kvalitativně pomocí SEM. Tvorba biofilmu byla potvrzena na všech testovaných materiálech a na referenčním materiálu, s výjimkou ojedinělých případů, kdy došlo k inhibici růstu biofilmu. Analýzou SEM snímků bylo vyhodnoceno, že studované ostré hroty na hadí kůži zabraňují adhezi a tvorbě biofilmu bakterií, okolní povrchy však tvorbu biofilmu nepotlačují. Ostré hroty na hadí kůži poslouží jako předloha pro výrobu nanovláken s upraveným povrchem, která budou v rámci této práce dále testována.

Testování toxicity selenových nanočástic in vitro

Bc. Denisa Pineckerová

M2

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

Selen je esenciální mikronutrient, ale jeho vysoké dávky jsou toxické. Nanočástice elementárního selenu jsou považovány za bezpečnější formu podání než nízkomolekulární sloučeniny. Cílem práce bylo charakterizovat baktericidní a imunomodulační účinky různě formulovaných nanočástic elementárního selenu. Jelikož syntetizované selenové nanočástice nejsou stabilní v roztoku, byly připravené nanočástice stabilizované xantanem. Experimentální část se věnuje testování toxicity selenových nanočástic na modelu imunitních buněk RAW264.7, kožních buněk HaCaT a různých kmenech bakterií včetně oportunních patogenů a potenciálních nositelů antibiotické rezistence. Metabolická aktivita buněk byla měřena pomocí roztoku resazurinu, produkce oxidu dusnatého pomocí Griessova činidla a produkce reaktivních forem kyslíku pomocí fluorescenčních sond. Z holotomografické mikroskopie vyplývá, že selenové nanočástice přidané ve větším množství interagují s cytoplazmatickou membránou, což vede k buněčné smrti.

Mikrobiologie a biochemie rostlin

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE .

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

Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.

Ing. Vojtěch Škop, Ph.D.

Ing. Nikola Vrzáčková, Ph.D.

PROGRAM

09:00 zahájení

Bc. Veronika Brožková (M2, doc. Ing. Lenka Burketová, PhD.)

Rostlinná odpověď na akutní ER stres a účinek molekulárního chaperonu 4-PBA při obraně proti patogenům

Bc. Michaela Doubová (M2, Ing. Michal Strejček Ph.D.)

Experimentální manipulace půdního mikrobiomu a cyklu dusíku v arbuskulární mykorhizní hyfosféře

Bc. Magdalena Křišťanová (M2, doc. Ing. Lenka Burketová, CSc.)

Vztah rostlinných flotillinů a fosfolipidů

Bc. Angelina Massyagutova (M2, doc. Ing. Petra Lovecká Ph.D.)

Nové rostlinné zdroje biologicky aktivních látek

Bc. Markéta Sokolová (M2, Ing. Jakub Papík, Ph.D.)

Vliv vegetační historie na půdní mikrobiom

Bc. Jaroslav Šťastný (M2, doc. Lucie Muchová, PhD.)

Přírodní flavonoly jako molekuly uvolňující oxid uhelnatý

Bc. Marie Thümmelová (M2, Ing. Jáchym Šuman, Ph.D.)

Vliv rostlinných exudátů na transkriptom půdních bakterií rodu Rhodococcus

Rostlinná odpověď na akutní ER stres a účinek molekulárního chaperonu 4-PBA při obraně proti patogenům

Veronika Brožková

M2

Školitel: doc. Ing. Lenka Burketová, PhD.

Rostliny stále čelí nepříznivým vlivům prostředí a musí se bránit nejrůznějším stresům. Endoplazmatické retikulum (ER) je během obranných reakcí nucené ke zvýšené produkci proteinů, což může vyvolat stres ER. Rostliny tento stav řeší spuštěním signalizační dráhy odpovědi na špatně sbalené proteiny (UPR). Na experimentech s živočišnými kulturami bylo prokázáno, že lze ER snížit pomocí molekulárních chaperonů jako je například 4-fenylmásečná kyselina (4-PBA). Cílem práce je prozkoumat účinnost této látky v rostlinách *Arabidopsis thaliana* za podmínek umělého ER stresu vyvolaného tunicamycinem a během bakteriální infekce.

U mutantních rostlin *A. thaliana* Col-0 deficientních v jednotlivých komponentech UPR dráhy byla sledována reakce na infekci bakterií *Pseudomonas syringae* a vyvolaný ER stres. U rostlin byl dále sledován účinek 4-PBA při bakteriální infekci a při ošetření tunicamycinem. Rostliny deficientní v IRE1-bZIP60 větvi UPR vykazovaly vyšší rezistenci k patogenu a vyšší poškození listů se zvýšenou koncentrací kyseliny salicylové při vyvolaném ER stresu. 4-PBA nesnížila symptomy ER stresu, ale při ko-inokulaci současně s bakterií došlo k potlačení symptomů infekce. Studium propojení UPR a imunity má potenciál v hledání molekulárních markerů při šlechtění odolnějších odrůd.

Experimentální manipulace půdního mikrobiomu a cyklu dusíku v arbuskulární mykorhizní hyfosféře

Bc. Michaela Doubová

M2

Školitel: Ing. Michal Strejček Ph.D.

Arbuskulární mykorhiza (AM) je soužití kořenů rostlin se specializovanými půdními houbami z kmenů Glomeromycota a Mucoromycota, které představuje jednu z nejrozšířenějších interakcí napříč biologickými říšemi. Této symbiózy se účastní asi 70 % druhů rostlin, včetně významných plodin jako jsou například kukuřice, pšenice a brambory. Symbiotické houby umožňují propojení kořenů rostliny s půdou v jejich okolí, a tím částečně nahrazují funkci kořenů např. při příjmu živin jako fosfor nebo zinek z půdy. Role AM v cyklu dusíku není v současné době tolik objasněná jako její role např. v cyklu fosforu. V několika (vesměs deskriptivních) studiích byl ale prokázán negativní efekt aktivity AM hub na množství nitrifikačních bakterií v jejich bezprostředním okolí (hyfosféře), což se dá vysvětlit zvýšeným transferem dusíku (především ve formě amonných iontů) z půdy do rostliny za přispění AM hub. S cílem pochopení kauzální souvislosti byl proto manipulován přirozený půdní mikrobiom v několika různých nesterilních půdách pomocí inhibitorů nitrifikačních bakterií a archaeí, a následně sledován vliv přítomnosti AM houby *Rhizophagus irregularis* na populace těchto prokaryot a na utilizaci amonných iontů (isotopově označených ^{15}N) hostitelskou rostlinou.

Vztah rostlinných flotillinů a fosfolipidů

Bc. Magdalena Křišťanová

M2

Školitel: doc. Ing. Lenka Burketová, CSc.

Flotilliny jsou periferní membránové proteiny vyskytující se v takzvaných membránových nanodoménách. V místech, kde dochází ke shromažďování proteinů s rozmanitými funkcemi. Rostlinné flotilliny jsou popsány jako jedna ze složek zapojující se do obranných reakcí rostlin proti patogenům. Avšak jejich působení na molekulární úrovni u vyšších rostlin není zcela objasněné. Například mechanismus interakce flotillinů s membránovými fosfolipidy je neznámý. Cílem toho projektu je identifikovat doménu flotillinu-1 z *Arabidopsis thaliana*, která interaguje s fosfolipidy. Pomocí strukturně-bioinformatických metod byla identifikována možná lipid-vázající doména flotillinu-1. Tato doména byla metodami genového inženýrství připravena pro vnesení do bakterií *Escherichia coli*. Po následné expresi, byla doména purifikována pomocí afinitní chromatografie. Získaná doména bude použita pro biochemické a mikroskopické metody pro studium vazby periferních membránových proteinů s fosfolipidy a pro porovnání s chováním celého flotillinu-1. Výsledky tohoto projektu pomohou objasnit funkci a mechanismus účinku flotillinů u rostlin.

Nové rostlinné zdroje biologicky aktivních látek

Bc. Angelina Massyagutova

M2

Školitel Doc. Ing. Petra Lovecká Ph.D.

Rostlinné extrakty představují významný zdroj bioaktivních látek, které mohou hrát klíčovou roli v boji proti patogenním mikroorganismům. V současné době, kdy se zvyšuje rezistence patogenů na klasická antibiotika, jsou přírodní alternativy s antimikrobiálními účinky předmětem intenzivního výzkumu

Čekanka obecná se již po staletí hojně využívá v tradiční medicíně, a to díky širokému spektru biologických účinků. Mezi předpokládané biologické účinky patří antimikrobiální, antioxidační, protizánětlivé a další.

V rámci této práce byly připraveny extrakty z natě a kořene čekanky obecné metodami – superkritickou či Soxhletovou extrakcí, a nálev a výluh. U extraktů byla testována antimikrobiální aktivita diluční metodou pro grampozitivní a gramnegativní bakterie a kvasinku, antioxidační aktivita metodou zhášení DPPH radikálů a protizánětlivá aktivita na savčích buňkách RAW. U vzorků byly provedeny kvalitativní fytochemické testy na přítomnost terpenoidů a steroidů. Fenolické látky a flavonoidy byly kvantifikovány spektrofotometrickým stanovením.

V průběhu práce byly nejvyšší hodnoty obsahu fenolických látek a vysoká antioxidační aktivita u extraktů z kořene čekanky, vysoký obsah flavonoidů a antibakteriální účinky u extraktů z nati čekanky, antimikrobiální aktivita vůči *Cutibacterium acnes* u extraktů vyrobených superkritickou extrakcí.

Vliv vegetační historie na půdní mikrobiom

Bc. Markéta Sokolová

M2

Školitel: Ing. Jakub Papík, Ph.D.

Chemická hnojiva, orba a monokulturní zemědělství zásadně ovlivňují mikrobiální život v půdě, čímž snižují její kvalitu. Rotace plodin představuje udržitelný přístup, který dokáže tyto negativní dopady zvrátit a zároveň dlouhodobě zvyšovat výnosy. Přestože jsou tyto přínosy obecně známy, jejich molekulární podstata ve vztahu s takzvaným půdním mikrobiálním odkazem zůstává neprobádána. Cílem mé práce je tento fenomén blíže charakterizovat a dát jej do souvislosti s výnosy plodin. Výchozí biologický materiál byl získán v rámci dvouletého experimentu, kdy bylo rotováno pět různých zemědělských plodin. V této práci jsem použila metodu aplikace propidium monoazidu v kombinaci s qPCR za účelem porovnání podílu živých a mrtvých půdních mikrobiálních populací. Dále jsem připravila knihovny mikrobiálních taxonomických markerů pro následnou taxonomickou klasifikaci. Výsledky ukázaly, že podíl bakteriální a fungální reliktní DNA dosahoval v některých případech až přes 80 % celkové DNA. Výsledky tak nejen zdůrazňují potřebu odlišit živé a mrtvé mikrobiální populace, což umožňuje podrobnější zkoumání jednotlivých frakcí, ale zároveň poukazují na přítomnost nemalého množství mikrobiální nekromasy v půdě.

Přírodní flavonoly jako molekuly uvolňující oxid uhelnatý

Bc. Jaroslav Šťastný

M2

Školitel: doc. Lucie Muchová, PhD.

Diplomová práce se zabývá přírodními flavonoidními sloučeninami a jejich potenciálním využitím jako molekuly uvolňující oxid uhelnatý při ozáření světlem. V práci jsou vybrané flavonoidní sloučeniny otestovány pro jejich schopnost uvolňovat oxid uhelnatý. Sloučenina vykazující nejvyšší uvolňování je následně podrobena dalším testům na HEPARG buňkách za účelem její potenciální toxicity a zjištění jejího účinku na tyto buňky.

*Analýza transkriptomu půdních bakterií rodu *Rhodococcus* v odpovědi na kořenové exudáty rostlin*

Bc. Marie Thümmelová

M3

Školitel: Ing. Jáchym Šuman, Ph.D.

Kořenové exudáty jsou směsí organických a anorganických látek vylučovaných rostlinami do půdního prostředí v okolí jejich kořenového systému (tzv. rhizosféry), čímž významně ovlivňují složení a aktivitu přítomných mikrobiálních společenstev. Jednotlivé složky exudátů vyvolávají v cílových rhizosferních mikroorganismech spektrum fyziologických odpovědí, což se odráží na úrovni transkripce příslušných genů. Studium těchto fyziologických odpovědí rhizosferních bakterií je zásadní pro pochopení symbiotického vztahu mezi rostlinami a mikroorganismy s významnými důsledky např. v oblasti ekologie půdy, zemědělství a ochrany životního prostředí. Cílem této práce je analyzovat vliv rostlinných exudátů na transkriptom vybraných zástupců bakteriálního rodu *Rhodococcus*. Tito zástupci budou inkubováni s exudáty získanými z rostlin, jmenovitě z jílku vytrvalého (*Lolium perenne* L.), bazalky pravé (*Ocimum basilicum* L.) a meduňky lékařské (*Melissa officinalis* L.). Technikou RNA-Seq budou následně získány transkriptomy kultivovaných bakterií. Tato data budou analyzována s ohledem na rozdíly v hladinách transkriptů genů odpovídajících např. za interakce bakterie s rostlinou, metabolismus primárních a sekundárních metabolitů nebo schopnosti podporovat růst rostlin.

Vývoj bioanalytických metod

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE:

doc. Dr. Ing. Zuzana Novotná (předseda)

Ing. Michal Strejček, Ph.D.

Ing. Jana Kadavá

Ing. Hana Sýkorová, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

Bc. Kristýna Burešová (M2, doc. Ing. Jaroslav Zelenka Ph.D.)

Vývoj metody pro analýzu remdesiviru v biologické matrici pomocí LC-MS/MS

Bc. Michelle Fialová (M2, Ing. Ludmila Karamonová, Ph.D.)

Vývoj sendvičového formátu imunochromatografického testu pro detekci lidského růstového hormonu v nelegálních preparátech pro sportovce

Bc. Adéla Chemišincová (M2, doc. Ing. Barbora Holubová, Ph.D.)

Vývoj imunochromatografického testu pro detekci THC a HHC

Bc. Michaela Jiskrová (M2, Ing. Jiří Šantrůček, Ph.D.)

Vývoj metody pro analýzu sérových proteinů adsorbovaných na biomateriálech

Bc. Anna Krátká (M2, doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.)

Zavedení modelu sledování degranulace bazofilních buněk in vitro

Bc. Barbora Špatková (M2, pplk. Mgr. Ivana Turková)

Chemická degradace textilií a textilních vláken vlivem zasažení žíravinami

Bc. Zuzana Wolfová (M2, doc. Ing. Martina Krausová, Ph.D.)

*Nová metoda pro stanovení koncentrace infliximabu a adalimumabu a protilátek
proti těmto léčivům*

Vývoj metody pro analýzu remdesiviru v biologické matici pomocí LC-MS/MS

Bc. Kristýna Burešová

M2

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

Virové infekce mohou u imunokompromitovaných jedinců vyvolat závažný průběh onemocnění. Na konci roku 2019 se začal šířit nový koronavirus označený SARS-CoV-2 (z angl. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2), který způsobil rozsáhlou pandemií. SARS-CoV-2 je jednovláknový RNA virus s pozitivní polaritou, který se přenáší pomocí kapének. Do hostitelské buňky se dostává prostřednictvím vazby na ACE receptor. Jako účinnou molekulou léčiva se ukázal být nukleosidový analog remdesivir, který se dokáže inkorporovat do virové RNA během replikace a tím ji zastavit. Při terapii remdesivirem byla pozorována hepatotoxicita a nefrotoxicita. Proto je nutné během léčby monitorovat funkce těchto orgánů i hladiny podávaného antivirotika. Pro stanovení remdesiviru byla vyvinuta LC-MS/MS metoda za použití ionizace elektrosprejem v pozitivním módu na systému Agilent 1290, Triple Quad 6495, Agilent Technologies. Jako vnitřní standard byl použit izotopově značený ganciklovir-d5. Separace vzorků probíhala na koloně Eclipse Plus C18 (1,8 µm, 3,0 x 50 mm) s gradientovou elucí mobilních fází (A – voda a HCOOH (0,1 %), B – acetonitril a NH₄F (0,05 %)). Po úspěšné validaci byla metoda ověřena na reálných patientských vzorcích.

Vývoj sendvičového formátu imunochromatografického testu pro detekci lidského růstového hormonu v nelegálních preparátech pro sportovce

Bc. Michelle Fialová

M2

Školitel: Ing. Ludmila Karamonová, Ph.D.

Užívání zakázaných látek za účelem zvýšení fyzické výkonnosti představuje celosvětový fenomén. Nelegální trh s těmito látkami se neustále rozšiřuje a pro vrcholové i amatérské sportovce je poměrně snadné si je opatřit. V posledních letech se zvýšil zájem o preparáty s obsahem růstového hormonu (hGH, z angl. human growth hormone). Tento bílkovinný hormon je u sportovců oblíbený zejména pro své potenciální anabolické vlastnosti a lipolytické účinky. Cílem této práce bylo vyvinout imunochromatografický test v sendvičovém formátu umožňující rychlou detekci hGH v nelegálních preparátech určených pro sportovce. Během vývoje byly testovány různé monoklonální a polyklonální protilátky proti hGH v přímém i nepřímém uspořádání imunochromatografického testu. Nejlepší výsledky poskytoval test v nepřímém uspořádání se záchytnou monoklonální myší protilátkou vyrobenou firmou Exbio a detekční polyklonální králičí protilátkou od firmy Invitrogen. Následně byly vybrány vhodné podmínky metody. Ve všech podezřelých preparátech, zachycených Policí ČR, byla pomocí sestaveného testu zjištěna přítomnost hGH. Ta byla následně potvrzena pomocí LC/MS. U vyvinutého testu pro detekci hGH bude dále testována jeho dlouhodobá stabilita.

Vývoj imunochromatografického testu pro detekci THC a HHC

Bc. Adéla Chemišincová

M2

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

Tetrahydrokanabinol (THC) i hexahydrokanabinol (HHC) jsou látky, které obecně řadíme mezi kanabinoidy. THC patří mezi takzvané fytokanabinoidy, tzn. látky vyskytující se přirozeně v rostlinách rodu konopí (*Cannabis*). HHC je oproti tomu považován za semi-syntetický kanabinoid, jež se sice ve stopovém množství může v konopí vyskytovat, avšak primárně je připravován syntetickou cestou. Jedná se o potenciálně nebezpečnou látku, jejíž rychlý a včasný záchyt může hrát velkou roli. Cílem této práce je vývoj funkčního imunochromatografického testu (ICT) pro detekci HHC, a to zejména prostřednictvím dostupných komerčních protilátek proti THC, u nichž je předpokládána křížová interakce s HHC z důvodu vysoké strukturní analogie s THC. Dosud byly v rámci práce vybrány vhodné imunoreagencie a jejich koncentrace, a byl sestaven nepřímý kompetitivní formát ICT za použití konjugátu THC s hovězím sérovým albuminem, terciární protilátky, sekundární protilátky značené zlatými nanočásticemi a monoklonální protilátky proti THC. V navazujících experimentech bude syntetizován konjugát HHC-BSA, jež by měl nahradit komerční konjugát THC-BSA, a také budou určeny vizuální detekční limity pro THC, HHC a jejich deriváty.

Vývoj metody pro analýzu sérových proteinů adsorbovaných na biomateriálech

Bc. Michaela Jiskrová

M2

Školitel: Ing. Jiří Šantrůček, Ph.D.

Biomateriály jsou běžně využívány v medicíně, proto jsou na ně kladené vysoké nároky z hlediska biokompatibility, koroze, manipulačních vlastností atd. V těle se na biomateriály adsorbuje velké množství proteinů, které mohou ukazovat na biochemické procesy, které se při interakci tkání s biomateriály odehrávají. Cílem našich experimentů je vyvinout metodu, která by umožňovala účinnou desorpci proteinů adsorbovaných na biomateriálech, a jejich identifikaci a kvantifikaci pomocí hmotnostní spektrometrie. Detergenty sice umožňují efektivní extrakci adsorbovaných proteinů, ale většina jich inhibuje aktivitu trypsinu a v každém případě je nutné je odstranit před měřením na hmotnostním spektrometru. Na základě literární rešerše jsme k odstranění detergentů vybrali dva protokoly využívající buď spin kolonky s porézní fritou nebo kolonky s ultrafiltrační membránou. Dále jsme se soustředili na otestování různých způsobů vyhodnocení dat naměřených na hmotnostním spektrometru timsTOF HT s cílem detekovat co nejvyšší počet proteinů. Z prozatímních výsledků plyne, že oběma protokoly jsme identifikovali obdobný počet proteinů, nicméně, protokol používající kolonky s porézní fritou je mnohem méně pracný a zvládnutelný během jednoho dne.

Zavedení modelu sledování degranulace bazofilních buněk in vitro

Bc. Anna Krátká

M2

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

Bazofilní buňky jsou důležitou součástí imunitního systému. Jejich cytoplazma je vyplněna kulatými granuly obsahujícími celou řadu mediátorů, např. histamin a cytokiny. Po aktivaci bazofilních buněk dochází k degranulaci, čímž zajišťují obranu proti parazitárním infekcím, ale i proti některým běžně se vyskytujícím antigenům (alergická reakce). Také hrají důležitou roli v autoimunitních reakcích a při opravě tkáně. Cílem této práce je zavedení modelu pro sledování degranulace bazofilní linie buněk KU812 *in vitro* a v budoucnu sledovat ovlivnění těchto buněk nanoplasty. Buňky byly konstantně ovlivněny hydrokortisonem, který nespecifickým mechanismem způsobuje diferenciaci buněk. Přítomnost bazofilních granul byla sledována pomocí přídavku fluorescenční barvy, přičemž intenzita granul diferencovaných buněk byla porovnávána s buňkami navíc ovlivněnými látkami podporujícími aktivaci a degranulaci bazofilů (např. ionomycin, forbol 12-myristát-13-acetát (PMA), N-formyl-methionyl-leucyl-fenylalanin (fMLP)). Buňky byly sledovány pod fluorescenčním mikroskopem ($\lambda_{\text{ex}} = 488 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 530 \text{ a } 640 \text{ nm}$). Po ovlivnění látkami podmiňujícími aktivaci a degranulaci byla také sledována hladina uvolněných látek z granul (β -hexosamidasa, histamin, IL-6) pomocí metody ELISA.

Chemická degradace textilií a textilních vláken vlivem zasažení žíravinami

Bc. Barbora Špatková

M2

Školitel: Ing. Jan Lipov, Ph.D.

Textilní vlákna a textilie, jako takové využíváme každý den. Díky tomu jsou častým zdrojem forenzních stop a mikrostop. Ve spolupráci s Kriministickým ústavem PČR pracujeme na projektu, jehož úkolem je zkoumat degradaci textilií a textilních vláken. Konkrétním cílem této práce je chemická degradace. Základem tedy bude vybrat nejčastěji používané typy textilií a vystavit je kontaktu s žíravinami. V předem stanovených časových intervalech budeme pozorovat a dokumentovat míru jejich poškození. Pomocí mikroskopických technik budeme zaznamenávat strukturní změny látek před a po kontaktu s žíravinou. Doplnkovou metodou dokumentující změny na textiliích a textilních vláknech bude Ramanova spektrometrie. V praxi by měly získané výsledky pomoci k snazší identifikaci žíraviny, která poškodila degradovanou textilii, což jsou hodnotná data pro vyhotovování znaleckých posudků. Výsledky budou zahrnuty do vznikající databáze, shromažďující informace o degradaci textilií a textilních vláken.

Nová metoda pro stanovení koncentrace infliximabu a adalimumabu a protilátek proti těmto léčivům

Bc. Zuzana Wolfová

M2

Školitel: doc. Ing. Martina Krausová, Ph.D.

Zavedení nové metody pro stanovení hladin biologických léčiv (infliximab, adalimumab) a protilátek proti těmto léčivům u pacientů s autoimunitními onemocněními gastrointestinálního traktu na Ústavu imunologie a alergologie FN Plzeň. Verifikace metody, srovnání se stávající metodou, určení míry korelace výsledků, opakovatelnosti, reprodukovatelnosti, finanční rozvaha.

Produkce a charakterizace biologických materiálů

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

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

doc. Ing. Igor Hochel

Ing. Petr Svoboda, Ph.D.

Ing. Tereza Leonhardt, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

Bc. Mai Phuong Dao (M2, Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.)

Non-thermal plasma antimicrobial activity of point-to-ring discharge on selected bacteria and yeast

Bc. Dávid Dudlák (M2, Ing. Eva Benešová Ph.D.)

Rekombinantná produkcia a charakterizácia L-asparaginázy iso2 z chladovo adaptovanej baktérie Arthrobacter polaris

Bc. Jakub Jančík (M2, Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.)

Izolace a charakterizace lipoproteinových částic s apolipoproteinem A-IV

Bc. Jiří Kohout (M2, doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.)

Rekombinantní produkce a charakterizace kathepsinu L2 z parazitické krevničky Schistosoma mansoni

Bc. František Mašek (M2, Ing. Michal Strejček, Ph.D.)

Charakterizace bakterií degradujících toluen a xylen izolovaných ze zeminy kontaminované petrochemickým průmyslem

Bc. Tereza Opavová (M2, doc. Ing. Zelenka Jaroslav Ph.D.)

Purifikace superkomplexů mitochondriálního dýchacího řetězce

Bc. Kristýna Patková (M2, prof. Ing. Tomáš Ruml CSc.)

Vývoj a aplikace fluorescentních deoxyribosymů

Assessment of non-thermal plasma antimicrobial activity of point-to-ring discharge on selected bacteria and yeast.

Bc. Mai Phuong Dao

M2

Školitel: Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

As microbial contamination and infection pose major challenges in the food industry, ecology, agriculture, and medicine, the applications of non-thermal plasma (NTP) have been actively explored due to its microbicidal effects without causing damage to delicate samples. This study focuses on the antimicrobial effects of NTP generated by a low-cost, portable plasma source configured in a point-to-ring arrangement. The effects were tested on selected bacteria and yeast, specifically *Citrobacter freundii*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes*, and *Candida albicans*, when grown on agar plates. The highest reduction in colony-forming units (CFU), a 4.14-log reduction, was observed with *C. albicans*. Additionally, the antimicrobial effect of NTP was investigated in liquid suspensions containing plasma-activated water (PAW) created by an NTP source, as well as in artificially prepared aPAW. The minimum inhibitory concentration (MIC) of PAW was successfully determined for *C. freundii*; however, this result was not achieved for the remaining microbes. In the future, this study aims to expand the selection of bacteria and include a source of PAW that is effective against a broader range of microbes.

Rekombinantná produkcia a charakterizácia L-asparaginázy iso2 z chladovo adaptovanej baktérie *Arthrobacter polaris*

Bc. Dávid Dudlák

M2

Školiteľ: Ing. Eva Benešová Ph.D.

Enzýmy zohrávajú čoraz dôležitejšiu úlohu v rôznych odvetviach priemyslu, čo vytvára rastúci dopyt po nových zdrojoch s unikátnymi biochemickými vlastnosťami. Takýto biotechnologický nástroj predstavuje aj L-asparagináza iso2 z chladovo adaptovanej baktérie *Arthrobacter polaris*, ktorej potenciálnou oblasťou aplikácie je potravinárstvo. Tam by mohol skúmaný enzým slúžiť ako prevencia voči vzniku akrylamidu, karcinogénu skupiny 2A podľa IARC.

V tejto práci sme optimalizovali podmienky pre rekombinantnú produkciu L-asparaginázy iso2 s využitím produkčného systému *Escherichia coli* LEMO21(DE3), a zabezpečili jej úspešnú purifikáciu prostredníctvom afinitnej chromatografie. Následne sme skúmali jej kinetické a biochemické vlastnosti. Optimálne pH enzýmu bolo nájdené v rozmedzí hodnôt 9,2 až 9,3 a optimálna teplota pre jeho aktivitu bola stanovená na 37 °C. Skúmaním závislosti počiatočnej reakčnej rýchlosti enzýmu na koncentrácii substrátu bola zistená hodnota $K_M \approx 29,37 \text{ mmol L}^{-1}$. Táto závislosť zároveň odhalila aj substrátovú inhibíciu enzýmu s prislúchajúcou hodnotou $K_i \approx 37,86 \text{ mmol L}^{-1}$. Ďalšími krokmi tejto práce bude overenie možnosti imobilizácie enzýmu na mikrotitračné doštičky pre zlepšenie jeho stability a zvýšenie potenciálu využitia enzýmu v priemyselných procesoch.

Izolace a charakterizace lipoproteinových částic s apolipoproteinem A-IV

Bc. Jakub Jančík

M2

Školitel: Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

V rámci mé diplomové práce se zabývám amyloidózami v ledvinách, které byly odhaleny v naší laboratoři a jejichž původcem byl mutovaný apolipoprotein A-IV (ApoA-IV). ApoA-IV je lidský glykoprotein, který produkují především buňky tenkého střeva a jater. Podílí se na tvorbě lipoproteinových částic – chylomikronů a HDL částic, v nichž pomáhá transportovat hydrofobní látky jako lipidy a cholesterol po těle. Mým úkolem je studium odlišné vazby mezi identifikovanými mutanty apolipoproteinu A-IV a lipidy v lipoproteinových částicích. Pomocí cholát-dialyzační metody a následné permeační chromatografie jsem připravil lipoproteinové částice s nemutovaným ApoA-IV a charakterizoval je pomocí základních biochemických metod jako cirkulárního dichroismu, dynamického rozptylu světla a měření koncentrace lipidů. Tyto analýzy odhalily, že připravené částice vykazují podobné vlastnosti jako HDL částice. Postup pro přípravu lipoproteinových částic jsem zavedl i pro mutanty v menším měřítku, kde jsem nepozoroval žádné odlišnosti v účinnosti rekonstituce a stabilitě komplexů. Zavedené postupy použijeme k podrobné charakterizaci mutantních částic

Rekombinantní produkce a charakterizace kathepsinu L2 z parazitické krevničky Schistosoma mansoni

Bc. Jiří Kohout

M2

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

Schistosomóza, onemocnění způsobené parazitickou krevničkou *Schistosoma mansoni*, postihuje více než 200 milionů lidí, přičemž dalších 800 milionů je v přímém riziku infekce. Spolu s malárií se jedná o nejrozšířenější parazitické onemocnění, které se v současné době začíná šířit z tropických a subtropických oblastí i do Evropy. Proti schistosomóze existuje pouze jediný lék, a proto jsou hledány nové cílové proteinové molekuly, jejichž inhibitory by mohly působit jako nová chemoterapeutika a předcházet tak vývoji rezistence. Tato práce se zabývá kathepsinovou proteasou SmCL2, která je součástí trávicího systému krevničky pro degradaci krevních proteinů hostitele. Rekombinantní forma SmCL2 byla připravena v kvasinkovém expresním systému a purifikována. Byly analyzovány její vybrané funkční parametry, včetně citlivosti k peptidomimetickému inhibitoru cysteinových proteas. Dále byly připraveny první krystaly komplexu SmCL2 s tímto inhibitorem za účelem vyřešení 3D struktury a vazebného módu. Tyto informace umožní návrh a optimalizaci inhibitorů SmCL2 jako potenciálních léčiv proti schistosomóze.

Charakterizace bakterií degradujících toluen a xylen izolovaných ze zeminy kontaminované petrochemickým průmyslem

Bc. František Mašek

M2

Školitel: Ing. Michal Strejček, Ph.D.

Přestože jsou toluen a xylen látky běžně využívané v průmyslové výrobě a jsou nedílnou součástí ropných produktů, jejich akumulace je v životním prostředí nežádoucí. Při dlouhodobé expozici mohou tyto látky působit toxicky na lidský organismus, zejména způsobovat poruchy nervové a dýchací soustavy. Je proto důležité tyto látky odstraňovat ze zasažených lokalit, například pomocí bioremediace, jež představuje odstranění polutantů pomocí činnosti živých organismů. Tato práce je součástí projektu Nympe, jehož cílem je zefektivnit bioremediační procesy kombinací mikrobiálních společenstev a rostlin. Předmětem této práce je získat bakteriální kmeny s degradačními vlastnostmi, které budou následně kultivovány s vybranými rostlinami v rámci projektu Nympe. Ze vzorků kontaminované zeminy byly připraveny mikrokosmy obohacené toluenem nebo xylenem, z nichž byly po inkubaci izolovány mikroorganismy schopné přežívat v přítomnosti těchto látek. Ty byly následně identifikovány pomocí hmotnostní spektrometrie či sekvenace genu pro 16S rRNA. Celkem bylo získáno 868 izolátů, z nichž 145 unikátních izolátů bylo podrobeno degradačním testům. Prozatím 9 izolátů prokázalo potenciál využívat toluen jako jediný zdroj uhlíku a jejich degradační aktivita bude ověřena a kvantifikována metodou GC-MS.

Purifikace superkomplexů mitochondriálního dýchacího řetězce

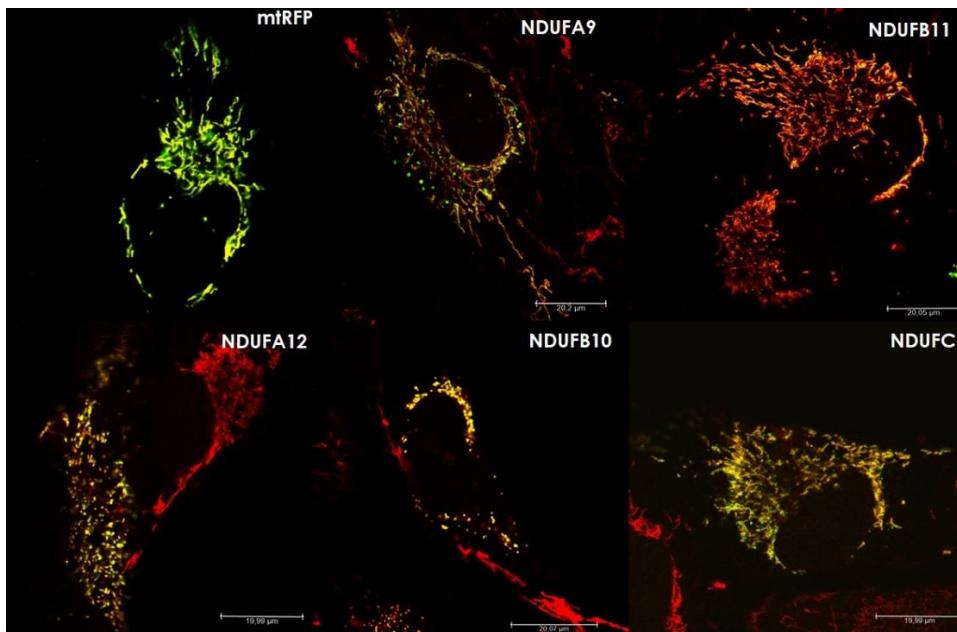
Bc. Tereza Opavová

M2

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

Dýchací řetězec je lokalizován v mitochondriích, kde zajišťuje buněčné dýchání. Tvoří ho 4 komplexy prostupující vnitřní mitochondriální membránou. Tyto komplexy většinou tvoří nadmolekulární struktury zvané superkomplexy (SK). Skládání komplexů do SK má několik zásadních funkcí - stabilizuje komplex I (kl), snižuje množství volných radikálů a zvyšuje metabolickou aktivitu. Mitochondriální onemocnění jsou spojena s mutacemi proteinů dýchacího řetězce, zejména v případě kl. V mé práci bych chtěla pomocí purifikace SK přes kl objevit nové assembly a regulační proteiny u pacientů s metabolickými poruchami.

Nejprve byly na krystalografickém modelu savčího kl vybrány proteiny, jejichž C-konec je lokalizován mimo strukturní a funkční části kl. Takto vybrané sekvence proteinů byly na c-konci opatřeny flagovou sekvencí a transfekovány do buněk. SDS PAGE a imunofluorescence, potvrdila přítomnost proteinů v buňkách a mitochondriích. Pomocí nativní PAGE byla zjištěna přítomnost značených proteinů v kl. Po této fázi byly některé proteiny z důvodu nízké nebo žádné odezvy vyřazeny. Zbývající proteiny byly použity pro imunoprecipitaci.



Obrázek 1 Imunofluorescence - červeně mitochondrie, zeleně značené proteiny lokalizované v mitochondriích

Vývoj a aplikace fluorescentních deoxyribozymů

Bc. Kristýna Patková

M2

Školitel prof. Ing. Tomáš Ruml CSc.

Deoxyribozymy jsou katalytické molekuly DNA, které představují slibnou alternativu k proteinovým enzymům. Mezi jejich hlavní výhody patří snadná a nízkonákladová chemická syntéza, vysoká stabilita v různých podmínkách a možnost cílené konstrukce prostřednictvím umělé evoluce. Naše skupina se zaměřuje na vývoj deoxyribozymů, které mohou generovat různé typy signálů. Jedním z těchto deoxyribozymů je fluorescenční deoxyribozym Aurora. Tato molekula umožňuje rychlou a efektivní detekci díky jednoduchému pracovnímu postupu a může být modifikována tak, aby poskytovala signál pouze za přítomnosti specifické cílové molekuly. Aurora byla využita k identifikaci inhibitorů ribonukleázy SARS-CoV-2 a v současnosti pracujeme na vývoji varianty Aurory schopné detekovat povrchový antigen neuraminidasu chřipkového viru. Takovýto senzor by mohl být využit pro vývoj rychlých a ekonomicky dostupných diagnostických testů.

Ústav sacharidů a cereálií (321)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Roman Bleha, Ph.D.

SEZNAM SEKCI

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.

Ing. Simona Gillarová, Ph.D.

Ing. Petra Smrčková, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

Bc Anna Dolejší (Mgr. 2. ročník)

Reformulace karamel fudge nebo toffee

Divine King-Oladipo (Mgr. 2. ročník)

Characterisation of Cell Wall Components from a Microalgae Haematococcus pluvialis

Bc. Kristýna Klárová (Mgr. 2. ročník)

*Strukturní analýza polysacharidových frakcí pocházejících z plodnic hub *Herichium erinaceus* (kmen f 5242)*

Bc. Rastislav Korman (Mgr. 2. ročník)

Izolace a strukturní analýza polysacharidových frakcí z hlívy ústříčné - black pearl

Bc. Adeliya Rakhimzhanova (Mgr. 1. ročník)

Příprava polysacharidových filmů jako potenciálních krytů ran a jejich desinfekce netermálním plazmatem.

Bc. Katerina Robertsová (Mgr. 2. ročník)

Studium fyzikálních vlastností čokolády a cukrovinek pomocí mikroskopických metod

Bc. Hynek Řeháček (Mgr. 2. ročník)

Analýza cukrovarnických produktů a meziproductů pomocí chemických a instrumentálních metod

Bc. Marek Sogel (Mgr. 1. ročník)

Strukturní analýza polysacharidových frakcí pivovarského mláta s potenciálním využitím pro pekárenské účely

Bc. Anna Zemaníková (Mgr. 1. ročník)

Reologické chování pšeničných těst s přísadkou cizrnové mouky

SPONZOŘI - ÚSTAV SACHARIDŮ A CEREÁLÍ



P-LAB



NICOLET CZ
MOLECULAR SPECTROSCOPY



SHIMADZU
Excellence in Science



helago®



GoodMills
Česko



La Lorraine
BAKERY GROUP

Reformulace karamel typu fudge nebo toffee

Jméno a příjmení: Bc. Anna Dolejší

Ročník studia: M3

Školitel: prof. Ing. Jana Čopíková, CSc.

Tato práce se věnuje reformulaci karamel typu fudge nebo toffee pomocí horkovodného extraktu připraveného z léčivé houby *Hericium erinaceus* 120. Karamely byly připravovány s různým objemovým přídatkem tohoto extraktu. Karamely typu fudge byly připraveny zahřátím směsi cukru, vanilinového cukru, glukosového sirupu, kondenzovaného mléka, rostlinného tuku a vody na teplotu asi 110 °C. Při teplotě kolem 80 °C byl do směsi přidán fondán. Pro karamely typu toffee byl cukr smíchán s vanilinovým cukrem, máslem, glukosovým sirupem, kondenzovaným mlékem, rostlinným tukem, solí a lecitinem a směs byla zahřívána na teplotu asi 125 °C. U obou typů karamel byla směs nalita do forem. Takto připravené karamely byly následně analyzovány. Byla stanovena jejich sušina, barva a změna aktivity vody v průběhu skladování. Byla naměřena FTIR spektra připravených karamel a provedena interpretace vlnočtů. Polarizační mikroskopií byla ověřena přítomnost krystalů sacharosy ve vzorcích. Výsledkem senzorické analýzy bylo zjištění, že přídavek extraktu *Hericium erinaceus* nemá negativní vliv na senzorické vnímání produktu. V návaznosti na tuto práci lze uvažovat přípravu karamel s vyšším obsahem extraktu a provedení dalších analýz jako je změření velikosti částic či využití XRD nebo DSC.

Characterisation of Cell Wall Components from a Microalgae Haematococcus pluvialis

Name: Divine King-Oladipo

Study Year: M2

Supervisor: Ing. Roman Bleha, PhD.

Microalgae are photosynthetic microorganisms possessing complex cell walls comprising different components such as polysaccharides, proteins, lipids, etc. An interesting microalga, *Haematococcus pluvialis* which is significantly known for its astaxanthin accumulation was used for this study. This study focuses on the characterization and examination of the polysaccharide present in the cell wall of *H. pluvialis*. Using Hot Water (HWE) and Alkaline extraction (AE) methods, significant differences in the yield, molecular weight, and chemical composition of the extract were observed with HWE having the highest yield. Sugar analysis using Gas Chromatography (GC) showed that mannose and glucose were the primary monosaccharides suggesting a mannan or a glucomannan polysaccharide. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), was used as a screening method for all samples. The bioactive properties of *H. pluvialis* polysaccharides suggest potential in basis for health applications, including functional foods, dietary supplements, and biotechnological uses.

Strukturní analýza polysacharidových frakcí pocházejících z plodnic hub

Hericum erinaceus (kmen f 5242)

Jméno a příjmení: Bc. Kristýna Klárová

Ročník: M3

Školitel: Ing. Roman Bleha, Ph.D.

Medicinální houby spadají v říši organismů pod rozmanitou skupinu Opisthokonta. *Hericum erinaceus* je vedle dalších představitelů (*Ganoderma lucidum* či *Pleurotus ostreatus*) jeden z předních zástupců této skupiny. Klíčovou vlastností medicinálních hub je obsah biologicky aktivních látek, kterým bývá v rámci vědeckých studií věnována značná pozornost. Tyto látky zastupují především polysacharidy (β -glukany) přítomné v buněčných stěnách, dále např. proteiny, glukan-proteinové komplexy, aromatické či fenolické sloučeniny. β -glukany jsou zkoumány především kvůli svým imunomodulačním, protizánětlivým či protinádorovým účinkům. V rámci této práce byly z plodnic *H. erinaceus* extrahovány polysacharidové frakce, které byly deproteinizovány pomocí enzymů (pepsinu a pronasy). Následovala frakcionace za využití rozdělovací chromatografie v kombinaci s kolorimetrickou metodou fenol-kyselina sírová (PSA) pro stanovení celkového obsahu sacharidů v získaných frakcích. V jednotlivých krocích byla měřena infračervená spektra polysacharidových frakcí a bylo stanoveno monosacharidové složení po hydrolýze plynovou chromatografií s plamenově ionizačním detektorem (GC-FID).

Izolace a strukturní analýza polysacharidových frakcí z hlívy ústříčné – Black Pearl

Jméno a příjmení: Bc. Rastislav Korman

Ročník studia: M2

Školitel: Ing. Roman Bleha, Ph.D.

Cílem práce je izolácia a štruktúrna analýza polysacharidových frakcií z hlívy ústříčnej – Black Pearl.

Sušená plodnica Black Pearl bola rozdelená na klobúk a hlúbik lebo bolo očakávané iné zastúpenie polysacharidov. Rozomletý vstupní materiál bol premytý hexánom, etanolom, kyslým etanolom (0,2 M roztok HCl v 80% etanole), 80% etanolom 96% etanolom a acetónom a vysušené na vzduchu.

Bola vykonaná extrakcia studenou vodou (20 °C), horúcou vodou (100 °C) a alkalickým roztokom (1 M roztok NaOH, 7 °C). Polysacharidové frakcie z extraktov boli získané prídavkom prebytku etanolu.

Proteíny boli odstránené z frakcií pomocou enzýmov pepsín a pronáza, polysacharidy škrobového typu α -amyláza a pullulunáza.

Extrakt studenou vodou z klobúku po enzymatickom čistení bol ďalej frakcionovaný pomocou ionexovej chromatografie.

Všetky polysacharidové frakcie boli analyzované pomocou FTIR spektroskopie. Monosacharidové zloženie po hydrolýze a acetylácii vybraných polysacharidových frakcií bolo namerané pomocou GC/FID.

Příprava polysacharidových filmů jako potenciálních krytů ran a jejich desinfekce netermálním plazmatem

Jméno a příjmení: Adeliya Rakhimzhanova

Ročník studia: M1

Školitel: Ing. Roman Bleha, Ph.D.

Netermální plazma (NTP) je slibná desinfekční technologie, která využívá ionizovaný plyn k inaktivaci patogenů bez poškození substrátu. Tyto reaktivní částice kyslíku a dusíku také dobře pronikají přes polysacharidové filmy, které vzbudily značný zájem jako potenciální kryty na rány díky své biokompatibilitě, biodegradabilitě a schopnosti podporovat hojení. Jako polysacharid byl zvolen chitosan a byly testovány mechanické vlastnosti filmu. Po překrytí rány takovýmto filmem by rána mohla být dezinfikována působením netermálního plazmatu a zároveň filmem chráněna před další kontaminací. Další studie budou zaměřeny na zkoumání desinfekčních účinků působení netermálního plazmatu na vybraných mikroorganismech (G+ a G-) na kultivačních polotekutých médiích překrytých vybranými polysacharidovými filmy.

Studium fyzikálních vlastností čokolády a cukrovinek pomocí mikroskopických metod

Jméno a příjmení: Bc. Kateřina Robertsová

Ročník studia: M2

Školitel: prof. Ing. Jana Čopíková, CSc.

Čokolády a cukrovinky jsou populární výrobky, které se konzumují po celém světě. Pro hodnocení fyzikálních charakteristik a kvality lze využít mikroskopické metody. Záměrem této práce byla analýza čokolád, kandytů a želé pomocí optické mikroskopie pod viditelným a polarizovaným světlem, rastrovací elektronové mikroskopie (SEM) a žárové mikroskopie. Kromě jiných vzorků bylo porovnáno několik druhů hořké čokolády značky Lindt, které se lišily obsahem kakaové sušiny. Pomocí polarizační mikroskopie je možné identifikovat přítomnost anizotropních částic, například nerozpuštěných krystalů sacharózy, které by se neměly vyskytovat v kandytech. Jejich přítomnost může být znakem špatné kvality nebo problémů ve výrobním procesu. V této práci žárová mikroskopie byla využita pro charakterizaci tání čokolád a cukrovinek. Také pomocí SEM byly analyzovaly povrchové vlastnosti a vnitřní struktura hořké čokolády značky Orion.

Analýza cukrovarnických produktů a meziproduktů pomocí chemických a instrumentálních metod

Jméno a příjmení: Bc. Hynek Řeháček

Ročník studia: M2

Školitel: Ing. Simona Gillarová, Ph.D.

Práce je zaměřena na měření a analýzu parametrů produktů a meziproduktů v cukrovarnické výrobě s využitím klasických chemických metod, enzymatických postupů a moderních laboratorních i provozních analyzátorů. Analýzy byly prováděny na vzorcích jako jsou lisované řízky, digestát, surová šťáva a cukr, s využitím gravimetrických, spektrometrických, refraktometrických, polarimetrických a biochemických metod. Kromě těchto obvyklých metod se práce zabývá také poměrně novou metodou stanovení mykotoxinu zearalenonu v cukrové řepě, a to z hlediska bezpečného využití vedlejších produktů z cukrovky. Získaná data z jednotlivých analýz jsou využívána jak pro ověření kvality výsledných produktů a meziproduktů, tak pro správné nastavení, řízení a kontrolu jednotkových operací v cukrovarnické výrobě.

Strukturní analýza polysacharidových frakcí pivovarského mláta s potenciálním využitím pro pekárenské účely

Jméno a příjmení: Bc. Marek Sogel

Ročník studia: M1

Školitel: Ing. Roman Bleha, Ph.D.

Pivovarské mláto je vedlejším produktem vznikajícím během vaření piva. V současné době se pivovarské mláto využívá zejména jako surovina pro výrobu krmných směsí pro hospodářská zvířata. Avšak vzhledem ke svému složení by mohlo mít širší potenciál i v lidské výživě.

V rámci experimentální práce byla provedena základní analýza chemického složení a charakteristika přítomných polysacharidových frakcí pivovarského mláta vyrobeného z ječného sladu během vaření světlého ležáku.

Polysacharidové frakce byly získávány opakovanými extrakcemi studenou, horkou vodou a 1M vodným roztokem hydroxidu sodného. Uvedené frakce byly analyzovány pomocí FTIR v rozmezí vlnočtů 4000 až 400 cm^{-1} . Studenovodní extrakt byl nadále separován na anexové gelové koloně, jehož frakce byly detekovány pomocí metody fenol sírové kyseliny (PSA). U vybraných vzorků bylo analyzováno monosacharidové složení (GC/FID).

Bylo zjištěno, že mláto obsahuje relativně vysoký podíl vlákniny (78,8 % hm. v sušině), konkrétně ve formě složek arabinoxylanů a glukanů.

Reologické chování pšeničných těst s přidavky cizrnové mouky

Jméno a příjmení: Bc. Anna Zemaníková

Ročník: M1

Školitel: Ing. Pavel Skřivan CSc.

Reologické vlastnosti představují v cereální technologii významné parametry pro hodnocení jakosti mouk a mohou také sloužit pro predikci vlastností konečných výrobků. V současné době je snaha vylepšit nutriční vlastnosti pekárenských výrobků. Jako vhodné řešení se nabízí upravení receptury v podobě obohacení o luštěninovou mouku. Z technologického hlediska však dojde k modifikaci vlastností těsta při jeho zpracovávání a změně senzorických vlastností výsledného pečiva. Nahrazením části pšeničné mouky za cizrnovou budou ovlivněny jak farinografické, tak extenzografické charakteristiky, a to v návaznosti na výši podílu cizrnové mouky. Na základě reologických měření budou predikovány vlastnosti výsledných výrobků a následně budou pro ověření provedeny pekařské pokusy. Z výsledků reologického měření a pekařských pokusů pak bude vyhodnoceno, jaký poměr pšeničné a cizrnové mouky se jeví z hlediska konečného výrobku jako nejoptimálnější.

Ústav mléka, tuků a kosmetiky (322)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.

SEZNAM SEKCI

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.

Ing. Anna Macůrková, Ph.D.

Ing. Markéta Berčíková, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

Bc. Anastasiya Belkina (Mgr. 2. ročník)

Růst mikroorganismů v hybridních substrátech

Bc. Tomáš Hybner (Mgr. 2. ročník)

Příprava mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem přítomných v lidském lipidu

Bc. Viktória Kováčová (Mgr. 2. ročník)

Využitie analýzy lipidov a proteínov pre izoláciu organických rezíduí z archeologickej keramiky

Bc. Veronika Kropáčková (Mgr. 1. ročník)

Analýza lipidového složení pražené a nepražené kávy

Bc. Simona Nekolová (Mgr. 2. ročník)

Studium funkčních vlastností směsí mléčných a rostlinných protein

Bc. Ilaha Sultanova (Mgr. 2. ročník)

Vliv exopolysacharidu bakterie mléčného kvašení na texturu fermentovaných výrobků.

Bc. Monika Šuplíková (Mgr. 2. ročník)

Fyzikální stabilita emulzí v závislosti na jejich složení

SPONZOŘI - CHEMIE A TECHNOLOGIE MLÉKA, TUKŮ A KOSMETIKY



Růst mikroorganismů v hybridních substrátech

Bc. Anastasiya Belkina

(Mgr. 2. ročník)

V práci byly hodnoceny mikrobiologické, fyzikálně-chemické, reologické a senzorické parametry hybridních fermentovaných výrobků v porovnání s jogurtem. Fermentace mléka a směsí mléka a sójového nápoje v objemových poměrech 75:25, 50:50, 25:75 s úpravou obsahu bílkovin (4,2 % hm.) pomocí sušeného mléka, probíhala při 30 °C po dobu 18 h. U vzorků s vyšším podílem rostlinného nápoje bylo dosaženo po kultivaci nižší titrační kyselosti (38,57 °SH u směsi 25:75; 60,98 °SH u mléka) a v porovnání s jogurtem, vyššího pH a vyšší míry synereze (pH = 4,5 a 42,7 % synereze u směsi 25:75; pH = 4,2 a 34,7 % synereze u mléka). Mezi vzorky nebyly zjištěny rozdíly v počtu *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (nárůst o 3 řády), nárůst *S. thermophilus* byl u hybridních výrobků mírně nižší. Jako nejlepší byl z hybridních produktů při senzorické analýze hodnocen výrobek s nejnižším podílem sójového nápoje. Výsledky ukazují významný vliv podílu sójového nápoje na fermentační procesy a fyzikálně-chemické vlastnosti výsledných produktů.

Příprava mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem přítomných v lidském lipidomu

Bc. Tomáš Hybner

(Mgr. 2. ročník)

Mastné kyseliny s velmi dlouhým řetězcem a jejich biologicky aktivní deriváty jsou unikátní skupinou lipidů, které v lidském organismu zastávají nepostradatelné funkce v široké škále biochemických procesů. Díky své rozmanitosti se tyto látky specializují na udržování biologické funkce sítnice a mozku, podílejí se na buněčné signalizaci, tvorbě lipidových kotev, stabilizaci zakřivení buněčné membrány, přenos proteinů v sekreční dráze a vytváří propustnou bariéru pro správnou strukturu a funkci kůže. Jejich zastoupení v lidském lipidomu je spíše minoritní, avšak jejich deficience až úplná absence se projevuje zdravotními komplikacemi, jako jsou neurologické poruchy či neplodnost. Biosyntéza mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem probíhá v endoplazmatickém retikulu, kde dochází k elongaci mastných kyselin s kratšími řetězci až na požadovanou délku uhlíkového řetězce. Tento proces je katalyzován enzymy třídy ELOVL (elongases of very long chain fatty acids). Mezi nejvýznamnější prekursorů patří kyseliny dokosaheptaenová (C22:6 *n*-3) (DHA) a eikosapentaenová (C20:5 *n*-3) EPA. Cílem práce bylo připravit některé deriváty těchto mastných kyselin a prokázat jejich možný vznik v konkrétních vzorcích doplňků stravy.

Využitie analýzy lipidov a proteínov pre izoláciu organických rezíduí z archeologickej keramiky

Bc. Viktória Kováčová

(Mgr. 2. ročník)

Organická reziduálna analýza (ORA) archeologickej keramiky je skupina metód používaných pre izoláciu a výskum organických látok, ktoré sa sorbovali v jej póroch pri používaní pôvodných keramických nádob v minulosti. Medzi najčastejšie látky skúmané metódami ORA patria lipidy, ktoré sa v keramike usadzovali počas procesu prípravy pokrmov.

Metódy analýzy proteínov usadených v archeologickej keramike nie sú ešte bežne v ORA praxi používané. Predmetom práce je preto overenie metód izolácie lipidov bežne používaných v analýze archeologickej keramiky a v druhej časti práce bude nasledovať ich porovnanie s metódami proteomickej analýzy na vzorkách modelovej keramiky

V rámci modelových testov boli pripravené vzorky komerčnej terakotovej keramiky, na ktorých bol simulovaný proces varenia. Tieto vzorky boli varené vo dvoch druhoch vývaru z dvoch rôznych druhov mäsa - bravčového a hovädzieho, vysušené a ďalej spracované na ďalšiu analýzu. Pre extrakciu lipidov z modelovej keramiky bola použitá extrakcia s využitím okysleného metanolu. Pre extrakciu proteínov bude použité hĺbkové eutektické rozpúšťadlo zložené z močoviny a guanidínium chloridu. Koncovými analytickými metódami pre identifikáciu izolovaných organických látok budú GC/FID, GC/MS, GC-C-IRMS a LC-MS/MS.

Analýza lipidového složení pražené a nepražené kávy

Bc. Veronika Kropáčková

(Mgr. 1. ročník)

Práce se zaměřuje na porovnání vlastností lipidové frakce zelených a pražených kávových zrn. Celkem bylo použito 6 vzorků kávy, 3 zelené a 3 pražené. Olej byl extrahován Soxhletovou extrakcí za použití petroletheru a následně byly stanoveny základní parametry typické pro charakterizaci rostlinných olejů. Jednalo se o stanovení tukových čísel, konkrétně peroxidové číslo a číslo kyselosti. Dále bylo provedeno posouzení oxidační stability metodou zrychlené oxidace pomocí přístroje Rancimat. V práci je rovněž kladen důraz na složení mastných kyselin a nezmýdelnitelného podílu. Mastné kyseliny byly stanoveny jako methylestery pomocí GC-FID a složky nezmýdelnitelného podílu metodou GC-MS.

Studium funkčních vlastností směsí mléčných a rostlinných protein

Bc. Simona Nekolová

(Mgr. 2. ročník)

Ve světě výživy dnes neustále roste poptávka po bílkovinách. S tím, jak se zvyšuje důraz na udržitelnost a zdravý životní styl, hledají se inovativní způsoby, jak získat kvalitní proteiny z rostlinných zdrojů. Výrobci potravin reagují na rostoucí oblibu vegetariánství, veganství a flexitariánství, a proto se stále častěji obracejí k alternativám živočišných produktů. Tato práce se věnuje právě této oblasti a zaměřuje se na potenciál sójového proteinového izolátu při výrobě hybridních sýrů. U izolátu bylo analyzováno složení, které bylo porovnáno s hodnotami deklarovanými výrobcem. Dále byl kladen důraz na analýzu funkčních vlastností sójového proteinového izolátu, které mohou být zásadní při vývoji inovativních gelových produktů, jako jsou analogy sýrů. Ukázalo se, že sójové bílkoviny mají určité nevýhody, jako je horší rozpustnost nebo specifická chuť, což ale může být vylepšeno technologickými postupy či kombinací s mléčnými proteiny.

Sledována byla minimální koncentrace proteinu potřebná k tvorbě gelu a vliv koncentrace iontů – zejména na vápníku, který je přirozeně obsažen v mléce, hořčíku, klíčového při výrobě tofu, a sodíku, důležitého při solení sýrů.

Vliv exopolysacharidu bakterie mléčného kvašení na texturu fermentovaných výrobků.

Bc. Ilaha Sultanova

(Mgr. 2. ročník)

Výsledky studií ukazují, že exopolysacharidy (EPS) mají významný vliv na strukturu, texturu a senzorické vlastnosti fermentovaných mléčných výrobků. Využití bakteriálních kmenů, které produkují EPS, představuje ekologickou a přírodní alternativu k tradičním stabilizátorům a přísadám, což přináší nejen zlepšení kvality výrobků, ale i zvýšení jejich nutriční hodnoty. Exopolysacharidy nejen zlepšují reologické vlastnosti, ale také podporují pozitivní interakce s mléčnými bílkovinami, což přispívá k lepší struktuře a stabilitě gelu. Dále EPS zlepšují senzorické vlastnosti výrobků, což zvyšuje jejich přijetí mezi spotřebiteli. Aplikace EPS v potravinářském průmyslu se rozšiřuje, a to zejména v oblasti fermentovaných mléčných výrobků, čímž se zvyšuje potenciál pro vývoj nových, kvalitních a zdravých produktů.

Fyzikální stabilita emulzí v závislosti na jejich složení

Bc. Monika Šupolíková

(Mgr. 2. ročník)

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 testováno 22 vzorků emulzí o různém složení. K charakterizaci těchto emulzí byly zvoleny metody mikroskopického stanovení distribuce velikosti částic a měření indexu nestability, doby stability a směrnice sedimentace na přístroji LUMiSizer. Tyto metody využívají předpokladu, že velikost částic v emulzi je základním ukazatelem její stability.

Ústav analýzy potravin a výživy (323)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Martina Vlčková

SEZNAM SEKCI

1. Sekce 1
2. Sekce 2
3. Sekce 3

SPONZOŘI

AMEDIS

distributor of **SCIEX**



NICOLET CZ
MOLECULAR SPECTROSCOPY

avantor™

LECO
EMPOWERING RESULTS

MERCK

CHROMSERVIS

DYNEX

pragolab

Altium

helago®

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



SHIMADZU

Excellence in Science

Sekce 1

MÍSTO: B159

KOMISE

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

prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Ing. Vít Kosek, Ph.D.

Ing. Beverly Hradecká, Ph.D.

PROGRAM

9:00 **zahájení**

Anna Ďurišová (Bc. 3. ročník)

Hodnocení zastoupení prekurzorů akrylamidu v moukách dostupných na českém trhu

Bc. Adéla Gombitová (Mgr. 2. ročník)

Vývoj a optimalizace metody pro stanovení celkových oxidovatelných prekurzorů PFAS

Bc. Jiří Hádek (Mgr. 2. ročník)

Mykotoxiny a jejich konjugované formy v průběhu výroby piva

Bc. Aneta Hajznerová (Mgr. 1. ročník)

Využití potenciálu vakuového smažení pro přípravu bezpečných a chutných jablečných lupínků

Bc. Alžběta Horáková (Mgr. 2. ročník)

Srovnání analytických technik pro komplexní stanovení PFAS v lyžařských voscích

Bc. Tereza Jablonská (Mgr. 2. ročník)

Toxické glykoalkaloidy v bramborách

Bc. Veronika Jeníková (Mgr. 2. ročník)

Optimalizace analytické metody pro hodnocení biomarkerů mykotoxinů v moči

Bc. Petr Kučera (Mgr. 2. ročník)

Rezidua pesticidů v sušené ovoci

Adriana Lovus (Bc. 3. ročník)

Hodnocení chemické bezpečnosti českých medů

Hodnocení zastoupení prekurzorů akrylamidu v moukách dostupných na českém trhu

Anna Ďurišová (B3)

Školitel: Ing. Beverly Hradecká, Ph.D.

Akrylamid je procesní kontaminant hodnocen podle Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny (IARC) jako pravděpodobný lidský karcinogen skupiny 2A. Vzniká během tepelné úpravy potravin ($t > 120\text{ }^{\circ}\text{C}$) v rámci Maillardovy reakce. Jeho prekurzory jsou volný asparagin a redukující cukry. V cereáliích představuje asparagin klíčový prekurzor pro vznik akrylamidu. Ačkoliv jsou tyto výrobky klíčové v naší dietě přispívají mimo jiné významně dietární expozici akrylamidu. Snahou je proto vznik akrylamidu redukovat prostřednictvím snížení obsahu asparaginu nebo změnou podmínek technologického zpracování.

Předmětem zájmu je proto v dnešní době produkce nízkoasparaginových obilovin. Vzhledem k tomu, že je jeho obsah ovlivněn jak agronomickými, tak agrotechnickými faktory, stává se produkce takovýchto obilovin velkou výzvou. V první fázi studie bylo cílem provést nejprve screening obsahu volného asparaginu v moukách dostupných na českém trhu a následně zhodnotit potenciál vzniku akrylamidu při jejich použití při přípravě sušenek. Pro tento účel bylo zajištěno 30 vzorků (pšeničné hladké mouky, celozrnné a špaldové mouky), které byly analyzovány metodou ultraúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (U-HPLC – HRMS). Výsledky budou podrobně diskutovány v rámci prezentace.

Vývoj a optimalizace metody pro stanovení celkových oxidovatelných prekurzorů PFAS

Bc. Adéla Gombitová (M2)

Školitel: doc. Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.

Per- a polyfluoralkylované látky (PFAS) zahrnují tisíce chemikálií, které se díky svým jedinečným vlastnostem používají v různých průmyslových a komerčních aplikacích. V současné době je jejich kvantifikace cílenými metodami omezena na několik desítek. Možným řešením je metoda stanovení celkových oxidovatelných prekurzorů (např. fluorotelomerní PFAS) na měřitelné perfluoralkylové kyseliny (PFAA). Test celkových oxidovatelných prekurzorů (TOP) je založen na oxidaci persíranem v alkalickém prostředí. Konečné PFAS jsou analyzovány pomocí dostupných analytických metod, jako je například LC-MS. Tyto prekurzory jsou často méně stabilní než konečné PFAS a přeměňují se na vysoce perzistentní a toxické konečné produkty, které mají škodlivé účinky představující hrozbu pro lidské zdraví a ekosystémy. TOP test je důležitý pro komplexní hodnocení kontaminace a stanovení rizik spojených s těmito látkami. Cílem práce byla implementace metody TOP, kdy byly testovány různé podmínky oxidace (koncentrace oxidační směsi, doba oxidace, účinnost sušárny a heateru). Pozornost byla zaměřena na sledování průběhu oxidace vybraných prekurzorů (PFOSA, 6:2 FTS, 8:2 FTS). Finálním postupem byl otestován vysoce kontaminovaný vzorek odpadní vody (Suma PFAS 2364 ng/l) s cílem predikovat výskyt prekurzorů PFAS.

Mykotoxiny a jejich konjugované formy v průběhu výroby piva

Bc. Jiří Hádek (M2)

Školitel: prof. Milena Stránská, Ph.D.

Mykotoxiny jsou toxické sekundární metabolity mikroskopických vláknitých hub produkované především rody *Aspergillus*, *Fusarium* a *Penicillium*. Řadí se mezi přírodní toxické látky, které kontaminují širokou škálu zemědělských plodin a vyvolávají řadu onemocnění lidí a zvířat. Tyto kontaminanty se vyznačují vysokou stabilitou a často přechází ze surovin do produktu. Pivo patří mezi celosvětově nejkonzumovanější alkoholické nápoje a vyrábí se ze čtyř hlavních surovin – vody, kvasnic, chmele a sladu. Právě výroba sladu je vysoce riziková z hlediska rozvoje plísní a produkce mykotoxinů, vzhledem k optimálním podmínkám jako je teplota a vlhkost. Při sladování zároveň dochází k aktivaci enzymů, které vedou nejen k žádoucí hydrolýze zásobních polysacharidů, ale přispívají také ke vzniku specifických typů mykotoxinů, konkrétně glykosidů. V rámci této práce byl sledován přestup fusariových mykotoxinů, a to deoxynivalenolu, HT-2 a T-2 toxinů a jejich glykosidů z ječmene do sladu a dále do sladiny. Vzorky byly analyzovány pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie a vysokorozlišovací tandemové hmotnostní spektrometrie.

Využití potenciálu vakuového smažení pro přípravu bezpečných a chutných jablečných lupínků

Bc. Aneta Hajznerová (M1)

Školitel: Ing. Beverly Hradecká, Ph.D.

Vakuové smažení je poměrně novou a slibnou technologií pro přípravu snacků s požadovanou kvalitou, bezpečností a senzorickou jakostí. Tato technika smažení probíhá narozdíl od klasického konvenčního smažení za sníženého tlaku a teploty, čímž se zajišťuje zachování nutriční kvality produktu a minimalizace tvorby nežádoucích látek, například procesního kontaminantu akrylamidu (klasifikovaný jako pravděpodobný lidský karcinogen skupiny 2A). Stále více oblíbenými produkty se pro konzumenty stávají různé druhy lupínků jiných než klasických bramborových. Výchozí surovinou pro tyto produkty jsou často různé druhy zeleniny nebo ovoce. Trendem současné doby je vyvíjet nutričně bohaté výrobky. Cílem práce bylo proto optimalizovat podmínky pro výrobu chutných a bezpečných jablečných lupínků připravených vakuovým a klasickým konvenčním smažením. Ve výchozí surovině byly nejprve stanoveny prekursor akrylamidu (cukry a asparagin). Pro hodnocení mikrobiální údržnosti finálního výrobku byl stanoven obsah vody, dále obsah tuku a byl sledován obsah akrylamidu. Součástí práce bylo také senzorické hodnocení obou variant přípravy jablečných lupínků. Výsledky budou diskutovány v rámci prezentované práce.

Toxické glykoalkaloidy v bramborách

Bc. Tereza Jablonská (M2)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc

Glykoalkaloidy představují skupinu toxických sekundárních metabolitů, které se přirozeně vyskytují v bramborách (*Solanum tuberosum*) a dalších plodinách čeledi *Solanaceae*, mezi které řadíme i lilek či rajčata. Nejčastěji zastoupenými glykoalkaloidy v bramborách jsou α -solanin a α -chakonin, často souhrnně nazývané jako „solanin“. Tyto látky nalezneme především ve slupce, klíčcích a zelených částech hlíz, přičemž na jejich koncentraci mají vliv různé faktory jako podmínky pěstování, mechanické poškození nebo světlo a teplota při skladování. V roce 2022 bylo Evropskou komisí vydáno Doporučení č. 2022/561/EU, které se zaměřuje na potřebu monitorovat obsah glykoalkaloidů v bramborách a výrobcích z nich. Zároveň byla pro tuto komoditu stanovena orientační bezpečnostní hranice s nízkou pravděpodobností výskytu nežádoucích účinků 100 mg/kg pro sumu α -solaninu a α -chakoninu. V rámci této práce byly analyzovány odrůdy brambor z tržní sítě ČR a dále byl studován soubor autentických vzorků poskytnutých Výzkumným ústavem bramborářským, Havlíčkův Brod. Celkem byly pomocí metody UHPLC-HRMS stanovovány 4 významné látky: α -solanin, α -chakonin, γ -chakonin a solanidin a dále proběhl screening pro β -solanin a β -chakonin. Stanovené koncentrace byly porovnány s aktuálním doporučením Evropské komise.

Optimalizace analytické metody pro hodnocení biomarkerů mykotoxinů v moči

Bc. Veronika Jeníková (M2)

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

V rámci předcházející bakalářské práce byla zjištěna neúměrně vysoká kontaminace léčivých přípravků na bázi silymarinu mykotoxiny. Při dodržení doporučeného denního dávkování léčivého přípravku byly v několika případech překročeny limity tolerovaného denního příjmu, popřípadě prahu toxikologické obavy daných mykotoxinů i několikanásobně. Cílem navazujícího výzkumu je hodnocení expozice pacientů pomocí biomonitoringu. Tato práce je zaměřena na vývoj instrumentální metody pro analýzu biomarkerů mykotoxinů v moči využívající ultra-účinnou kapalinovou chromatografii a vysokorozlišovací tandemovou hmotnostní spektrometrii (U-HPLC-HRMS/MS). Optimalizovány byly veškeré podmínky ionizace (mimo jiné průtok sušícího a zmlžovacího plynu, teplota zdroje, napětí na elektrospreji), detekce a akvizičního módu s důrazem na detektabilitu mykotoxinů vyskytujících se v léčivých přípravcích (hlavně HT-2 a T-2 toxiny) a následně experimentálně zjištěny validační charakteristiky analytické metody (výtěžnost, limit kvantifikace, ale také matriční efekty). Optimalizovaná metoda bude následně využita při analýze reálných vzorků moči pacientů užívajících zmíněné léčivé přípravky.

Rezidua pesticidů v sušeném ovoci

Bc. Petr Kučera (M2)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Jablka jsou zařazována do diety, z důvodu pozitivního vlivu na některá chronická onemocnění. Primárně díky vysokému obsahu rozpustné vlákniny a sekundárních metabolitů, jako jsou vitamíny a polyfenolické látky. Mimo zdravotní benefity jablka skýtají riziko v podobě enviromentálních kontaminantů, jako jsou pesticidy. Pesticidy jsou široká skupina látek, užívaná k ochraně rostlin a plodů před škůdci. Pesticidy však podléhají změnám v procesu zpracování potravin.

Díky vysokému obsahu vody v jablkách, dochází v procesu sušení k úbytku hmotnosti. Společně s tímto úbytkem dochází k zakoncentrování reziduí pesticidů. Díky tomu lze zkonzumovat značné množství reziduí v jedné porci, což může znamenat překročení směrných hodnot, které odráží potenciální zdravotní riziko (ADI a ARfD) a to hlavně u dětí.

V rámci této práce byly sledovány změny obsahu reziduí v procesu sušení a lyofilizace jablek. V rámci předchozích experimentů, byly stanoveny procesní faktory (PF) pro některé pesticidy. Porovnání PF u jednotlivých analytů vykazovalo značné rozdíly (např. chlorpyrifos). Tato skutečnost odráží různorodost fyzikálně-chemických vlastností pesticidů.

V rámci této studie byla provedena analýza sušených a lyofilizovaných jablek z českého trhu. Zároveň byly provedeny pokusy sušení a lyofilizace uměle kontaminovaných vzorků. Analýza byla realizována metodou ultra-účinné kapalinové a plynové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Vzorky byly extrahovány metodou QuEChERS.

Hodnocení chemické bezpečnosti českých medů

Adriana Lovus (B3)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Pro svou specifickou chuť a aroma, výživovou hodnotu či např. antimikrobiální účinky, je med vysoce ceněným produktem na světovém trhu. Jeho kvalita a bezpečnost však může být negativně ovlivněna přítomností různých kontaminujících látek (např. rezidua pesticidů, rostlinné alkaloidy). Monitorování těchto látek je proto zásadní pro ochranu zdraví spotřebitelů.

V rámci této práce byla na základě analýzy reziduí pesticidů hodnocena chemická bezpečnost 11 vzorků medů pocházejících z různých oblastí České republiky. Pro přípravu vzorků byla použita extrakční metoda QuEChERS. Následné stanovení reziduí pesticidů bylo provedeno prostřednictvím ultraúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Pro tento účel byla využita validovaná metoda pro stanovení 351 analytů v medu. Zjištěné hladiny přítomných reziduí pesticidů byly posuzovány z pohledu legislativních předpisů.

Sekce 2

MÍSTO: B 36

KOMISE

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

prof. Dr. Ing. Jan Poustka

doc. Dr. Ing. Věra Schulzová

Ing. Veronika Svobodová, Ph.D.

PROGRAM

9:00 **zahájení**

Bc. Veronika Matoušková (Mgr. 1. ročník)

Analýza reziduí polárních pesticidů v rostlinných proteinových koncentrátech a izolátech

Bc. Lukáš Nevolný (Mgr. 1. ročník)

Kritické hodnocení kvality jedlého hmyzu jako zdroje alternativních protein

Bc. Jarmila Pisoňová (Mgr. 2. ročník)

Monitoring reziduí polárních pesticidů v maku

Matěj Pitrák (Bc. 2. ročník)

Možnosti hodnocení expozice člověka chlorovaným parafínům s využitím neinvazních metod

Barbora Prášková (Bc. 3. ročník)

Průkaz přítomnosti mykotoxinů v doplňcích stravy na bázi ječmene a ovsu

Bc. Zuzana Rothová (Mgr. 1. ročník)

Analytická strategie pro stanovení astaxanthinu z různých zdrojů

Bc. Eliška Růčková (Mgr. 2. ročník)

Screening fenolických sloučenin a dalších sekundárních metabolitů při výrobě proteinových koncentrátů z olejnin

Bc. Lucie Stará (Mgr. 2. ročník)

Hodnocení vlivu agronomických podmínek na obsah volného asparaginu ve vybraných cereáliích

Analýza reziduí polárních pesticidů v rostlinných proteinových koncentrátech a izolátech

Bc. Veronika Matoušková (M1)

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

Tato práce se zaměřuje na problematiku analýzy reziduí glyfosátu a kyseliny fosforité v rostlinných proteinových koncentrátech a izolátech. Rostlinné proteiny získané z luštěnin, obilovin případně pak i olejnin jsou oblíbené u spotřebitelů nejen díky své nutriční hodnotě ale i udržitelnosti, neboť se z technologického hlediska jedná o odpadní části využitých rostlin, jako jsou odtučněné šroty nebo mouky. Technologické postupy používané k výrobě rostlinných koncentrátů a izolátů mohou vést ke koncentraci polárních látek, a proto je důležité rezidua polárních pesticidů, která mohou představovat zdravotní riziko, ve zmíněných produktech monitorovat. Experimentální část práce byla zaměřena na optimalizaci extrakčního postupu zmíněných reziduí z různých typů proteinových koncentrátů vyrobených z hrachu, sóji, slunečnicových semínek, konopných semínek, hnědé rýže a dýňových semínek. Analyty byly následně stanoveny pomocí kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Metoda byla validována podle požadavků dokumentu SANTE/11312/2021, přičemž požadavek na výtěžnost 70–120 % i opakovatelnost do 20 % byl splněn pro většinu testovaných kombinací matrice – analyt. Matrice s vysokým obsahem škrobu, jako je rýže a hrách, se ukázaly jako nejvíce problematické.

Kritické hodnocení kvality jedlého hmyzu jako zdroje alternativních protein

Bc. Lukáš Nevolný (M1)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Jedlý hmyz je perspektivní nová potravina, která může sloužit jako kvalitní zdroj živočišné bílkoviny a dále i jako zdroj některých prospěšných mikronutrientů. V této práci byl analyzován obsah vybraných karotenoidů a tokoferolů v 10 vzorcích larev potměnka moučného a ve 2 vzorcích krmiva. Analýza byla provedena s využitím kapalinové chromatografie s detektorem diodového pole (DAD) a fluorescenčním detektorem (FLD). Cílem bylo z obsahů sledovaných analytů ve vzorcích zjistit, zda dochází ke zvýšení jejich obsahu v matrici hmyzu, který byl krmen potravou obohacenou o tyto látky. Bylo také porovnáno, zda má způsob usmrcení hmyzu vliv na koncentraci sledovaných analytů. Dále byly polární a nepochární extrakty analyzovány metodou HPLC-MS/MS. U nepochárních extraktů byl proveden lipidomický screening, u polárních extraktů byla provedena metabolická analýza. Cílem bylo nalézt signifikantní markery v jednotlivých vzorcích a zjistit, jak se vzorky od sebe liší. Na tyto poznatky lze dále navázat například k prokázání příčiny různých obsahů látek ve vařených a zmražených vzorcích, při shromažďování poznatků ohledně bezpečnosti hmyzu nebo další způsoby obohacení matrice hmyzu.

Názov práce: Monitoring rezíduí polárnych pesticídov v maku

Autor: Bc. Jarmila Pisoňová (M2)

Školiteľ: doc. Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.

Cieľom tejto štúdie bolo zhodnotenie chemickej bezpečnosti vzoriek maku z hľadiska obsahu rezíduí polárnych pesticídov. Práca bola zameraná na stanovenie rezíduí glyfosátu, glufosinátu a kyseliny fosforitej. V prvej fáze bol optimalizovaný postup izolácie týchto látok, najmä vplyv navážky na výťažnosť a matričný efekt. Finálna navážka vzorky bola 2,5 g. Pre vlastné stanovenie bola využitá kvapalinová chromatografia s tandemovou hmotnostnou spektrometriou. Metóda bola validovaná podľa požiadaviek dokumentu SANTE/11312/2021, kde požiadavky na výťažnosť 70 – 120 % a opakovateľnosť do 20 % boli splnené. Validovanou metódou bolo vyšetrených 74 vzoriek. Vo všetkých analyzovaných vzorkách boli rezíduá glyfosátu a glufosinátu pod limitom kvantifikácie 0,04 mg/kg a 0,02 mg/kg. Rezíduá kyseliny fosforitej boli detekované v 78 % vzoriek (58 zo 74). Len u 15 vzoriek bol obsah rezíduí kyseliny fosforitej pod limitom kvantifikácie 0,016 mg/kg. 16 vzoriek (22 %) dokonca prekročilo maximálny limit rezíduí 2 mg/kg, a to aj vrátane 50 % neistoty. Najviac kontaminovaná vzorka prekročila tento limit viac ako 30-krát. V priemere došlo k 2 až 9 násobnému prekročeniu stanoveného limitu. Z výsledkov vyplýva, že kontrole rezíduí kyseliny fosforitej v maku by mala byť venovaná väčšia pozornosť.

Možnosti hodnocení expozice člověka chlorovaným parafínům s využitím neinvazních metod

Matěj Pitrák (2B)

Školitel: Ing. Ondřej Pařízek, Ph.D.

Chlorované parafíny (CP) jsou látky využívané jako změkčovadla plastů nebo retardéry hoření.

CP jsou klasifikovány jako perzistentní organické polutanty a možné lidské karcinogeny, které mohou ovlivňovat endokrinní systém. Tato práce zahrnovala vývoj analytické metody pro stanovení CP s krátkým (SCCP) a středním (MCCP) řetězcem v silikonových náramcích (SW) a její následnou aplikaci na reálné vzorky náramků získané v rámci studie, které se zúčastnilo 57 lidí, převážně studentů a zaměstnanců VŠCHT.

Cílem této studie bylo zhodnotit lidskou inhalační a dermální expozici SCCP a MCCP. SW byly účastníky studie nošeny nepřetržitě po dobu 7 dní. CP byly z náramků izolovány pomocí opakované extrakce ultrazvukem, směsí rozpouštědel n-hexan:dichlormetan (1:1, v/v), následným SPE přečištěním pomocí silikagelu a směsí rozpouštědel n-hexan:dichlormetan (3:1, v/v). Četnost pozitivních vzorků byla 42 % pro SCCP a 75 % pro MCCP. Rozsah koncentrací byl 100 – 139 218 ng/g náramku u SCCP a 200 – 139 255 ng/g náramku u MCCP. Součástí této studie byl odhad dermální expozice u pozitivních vzorků pro SCCP a MCCP. V porovnání s hodnotami tolerovaného denního příjmu (TDI), překračují zjištěné mediány dermální expozice u MCCP hodnotu TDI téměř dvojnásobně.

Průkaz přítomnosti mykotoxinů v doplňcích stravy na bázi ječmene a ovsu

Barbora Prášková (B3)

Školitel: Ing. Průšová Nela, Ph.D.

Cereálie a cereální produkty jsou nedílnou součástí lidské stravy. V současné době vzrůstá obliba cereálních doplňků stravy, především kvůli vysokému obsahu vlákniny, vitaminů a minerálních látek. Součástí moderních diet jsou také klíčené cereálie, které mohou představovat alternativu k běžnému pečivu a cereáliím, zejména díky snadnější stravitelnosti a sensorickým vlastnostem. Tyto produkty však mohou mimo zmíněná pozitiva představovat také rizika z hlediska přítomnosti mykotoxinů, toxických sekundárních metabolitů mikroskopických vláknitých hub. Cereálie bývají často kontaminovány mykotoxiny již před sklizní, a díky jejich vysoké stabilitě se tyto látky dostávají i do finálních cereálních produktů. Klíčené cereálie navíc představují v tomto kontextu ještě vyšší rizika, protože podmínky potřebné pro klíčení jsou zároveň ideální pro růst plísní a produkci mykotoxinů. Cílem této práce bylo stanovení 58 mykotoxinů pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie a tandemové vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie (U-HPLC-HRMS/MS) v osmi vzorcích doplňků stravy na bázi ovsu a ječmene z českého trhu a v pěti vzorcích klíčených cereálií. Rovněž bylo provedeno hodnocení dietární expozice stanoveným mykotoxinům.

Analytická strategie pro stanovení astaxanthinu z různých zdrojů

Bc. Zuzana Rothová (M1)

Školitel: doc. Dr. Ing. Věra Schulzová

Astaxanthin je jedním z nejvýznamnějších karotenoidů, známý především pro své silné antioxidační vlastnosti. Mezi přírodní zdroje astaxanthinu patří řada rostlin, bakterií a řas, odkud se potravním řetězcem také dostává do těla krevet, krabů nebo lososů.

Největší využití nalézá zejména v doplňcích stravy, kam lze podle legislativy přidávat pouze přírodní astaxanthin ve formě oleoresinu z řasy *Haematococcus pluvialis*. Přírodní astaxanthin se vyskytuje převážně vázaný v esterech s mastnými kyselinami, zatímco syntetický je ve volné formě a lze ho přidávat například do krmiv.

Legislativa udává procentuální zastoupení volného astaxanthinu, jeho mono- a di- esterů v surovině pro výrobu doplňků stravy, oleoresinu. Pro většinu komerčně dostupných doplňků stravy je však uváděn pouze celkový obsah astaxanthinu.

Cílem práce je vyvinout analytickou strategii pro stanovení astaxanthinu a jeho esterů v řase *Haematococcus pluvialis*, oleoresinu a doplňcích stravy s využitím spektrofotometrie, HPLC-DAD a LC-MS pro jeho detekci. Tato strategie zahrnuje testování různých extrakčních postupů se zaměřením na co nejšetrnější uvolnění z esterových vazeb, neboť při hydrolýze může docházet k izomeraci a degradaci volného astaxanthinu.

Screening fenolických sloučenin a dalších sekundárních metabolitů při výrobě proteinových koncentrátů z olejnin

Bc. Eliška Růčková (M2)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová CSc.

S rostoucím zájmem spotřebitelů o rostlinné proteiny rostou i požadavky na vyváženost jejich zdravotních přínosů a senzorické přijatelnosti. Tyto vlastnosti výrazně ovlivňují polyfenolické sloučeniny, které jsou známé pro své antioxidační a protizánětlivé účinky, ale zároveň mohou způsobovat hořkou, svíravou nebo „zelenou“ chuť (tzv. off-flavour). Pomocí techniky UHPLC-HRMS/MS byla v rámci této studie analyzována spektra polyfenolů (fenolických kyselin, flavonoidů) v proteinových koncentrátech olejnatých semen, konkrétně řepky, slunečnice a sóji. Každá surovina byla zpracována běžnými technologickými postupy (extrakce oleje lisem, extruze výlisků a jejich texturace) a analyzovány byly produkty z jednotlivých výrobních kroků: výchozí surovina, melasa, meziprodukt a konečný produkt. Výsledky ukázaly, že s každým dalším krokem výroby dochází ke snížení obsahu sledovaných sloučenin. Tento pokles (i když nedochází k úplné eliminaci) byl pozorován jak při přechodu od výchozích surovin k finálním produktům, tak napříč výrobními technikami. Výsledky plynoucí ze sledování změn v obsahu látek způsobujících off-flavours napomohou k optimalizaci výrobního procesu rostlinných proteinových koncentrátů.

Sekce 3

MÍSTO: B 33

KOMISE

doc. Ing. Darina Dvořáková, Ph.D. (předseda)

prof. Ing. Vladimír Kocourek, CSc.

Ing. Lucie Drábová, Ph.D.

Ing. Zbyněk Džuman, Ph.D.

PROGRAM

9:00 **zahájení**

Bc. Barbora Šimůnková (Mgr. 2. ročník)

Glykosylované mykotoxiny v cereálních potravinách - možnosti izolace a kvantifikace

Emílie Šůsová (Bc. 3. ročník)

Využití kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie pro hodnocení lipidů různých biologických vzorků

Tobiáš Tichý (Bc. 3. ročník)

Kritické zhodnocení biologicky aktivních látek v léčebném konopí

Bc. Ema Vítová (Mgr. 1. ročník)

Výskyt mykotoxinů v rostlinných alternativách masa

Bc. Karel Wünsche (Mgr. 2. ročník)

Analytická strategie pro autentikaci celého a mletého pepře

Bc. Anastasiia Zhivaeva (Mgr. 2. ročník)

Charakterizace vybraných sýrů pomocí infračervené spektrometrie ve střední oblasti

Glykosylované mykotoxiny v cereálních potravinách - možnosti izolace a kvantifikace

Bc. Barbora Šimůnková (M2)

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

Mykotoxiny jsou sekundární metabolity mikroskopických vláknitých hub. Tyto toxické kontaminanty potravin a krmiv představují závažná zdravotní rizika jak pro zvířata, tak pro lidi. Jedním z hlavních zdrojů v EU jsou obiloviny, přičemž se v tomto případně jedná často o mykotoxiny produkované houbami rodu *Fusarium*, z nichž jedni z nejtoxičtějších jsou HT-2 a T-2 toxin. Rostliny pomocí svého detoxifikačního metabolismu tyto mykotoxiny glykosylují do podoby konjugátů s mono-/oligo- a polysacharidy. Konjugované formy jsou omezeně detekovatelné běžnými analytickými metodami, nicméně jejich hydrolýza v gastrointestinálním traktu člověka za uvolnění mateřských toxinů představuje navýšení skutečného zdravotního rizika. Prezentace blíže představuje téma monoglukosidů T-2 a HT-2 toxinu, konkrétně přípravu standardů pomocí enzymové syntézy a následnou preparaci substancí o vysoké čistotě pomocí preparativní kapalinové chromatografie (Waters AutoPurification System + Waters ACQUITY QDa) s charakteristikou čistoty frakcí pomocí vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie U-HPLC-HRMS/MS (UltiMate® 3000 U-HPLC systém, Q-Exactive Plus™). Takto získané čisté látky pak budou použity pro další výzkum v rámci projektu GAČR (24-10000S).

Hodnocení vlivu agronomických podmínek na obsah volného asparaginu ve vybraných cereáliích

Bc. Lucie Stará (M2)

Školitel: Ing. Beverly Hradecká, Ph.D.

Cereálie neboli obiloviny mají nepopíratelnou roli v našem spotřebním koši. To se odráží i na faktu, že až polovina kalorií, které se zkonsumují na celém světě pochází z obilovin a řadí se mezi nejvíce obchodovanou zemědělskou plodinu na mezinárodním trhu. Zároveň jsou obiloviny bohatým zdrojem redukujících cukrů a asparaginu, které při jejich tepelné úpravě dávají možnost vzniknout procesnímu kontaminantu akrylamidu (pravděpodobný lidský karcinogen skupiny 2A). Obsah asparaginu v obilných zrnech je velmi variabilní. Záleží na druhu obiloviny, agronomických a agrotechnických podmínkách (př. hnojení). V současné době je snahou najít mitigační strategie, které by umožnily pěstovat obiloviny s nízkým obsahem asparaginu za podmínek zachování kvality konečné suroviny. Ačkoliv obsahují cereální výrobky v porovnání s jinými komoditami méně akrylamidu, jejich hojnou konzumací významně přispívají dietární expozici akrylamidu. Cílem práce bylo sledovat vliv hnojení (dusík, síra) na obsah asparaginu ve vybraných obilovinách a zároveň sledovat jeho distribuci v jednotlivých frakcích mouk. Vzorky byly analyzovány metodou ultraúčinné kapalinové chromatografie a vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie (U-HPLC-HRMS). Dosavadní zjištěné výsledky budou diskutovány v rámci prezentace.

Využití kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie pro hodnocení lipidomu různých biologických vzorků

Autor: Emílie Šůsová (B3)

Školitel: Ing. Vít Kosek, Ph.D

Subklinický zánět je hlavní promotor aterosklerózy, která je většinou následovaná různými onemocněními, mezi něž patří například infarkt nebo mozková mrtvice. Fytokanabinoidy z rostlin rodu *Cannabis* jsou speciální skupinou sloučenin, které vykazují prospěšné zdravotně biologické účinky, mezi něž patří i účinky protizánětlivé. To z nich dělá potenciální kandidáty na medikaci zvýšeného zánětu.

V rámci této práce, která byla realizována ve spolupráci s IKEM, bylo ApoE-KO myším podáváno CBD a CBDA a byl sledován vliv těchto látek na progresi aterosklerózy. Vzorky plasmy a jater byly zpracovány pro lipidomickou analýzu, pro měření byla využita vysokoúčinná kapalinová chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostní spektrometrií. Data byla zpracována kombinací jednorozměrných i vícerozměrných statistických analýz.

Kritické zhodnocení biologicky aktivních látek v léčebném konopí

Tobiáš Tichý (B3)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc

Léčebné konopí se široce využívá v medicíně, zejména pro léčbu chronické bolesti, epilepsie, neuropatie a dalších stavů. Hlavními účinnými složkami konopí jsou fytkanabinoidy, jako *trans*- Δ 9-THC (*trans*-delta-9-tetrahydrokanabinol) a CBD (kanabidiol), nicméně další biologicky aktivní sloučeniny, jako terpeny, flavonoidy nebo alkaloidy, mohou modifikovat celkové terapeutické účinky konopných preparátů. Přestože se většina analýz soustředí na obsah kyseliny *trans*- Δ 9-tetrahydrokanabinolové/*trans*- Δ 9-tetrahydrokanabinolu (*trans*- Δ 9-THCA/*trans*- Δ 9-THC) a kyseliny kanabidiolové/kanabidiolu (CBDA/CBD), komplexní charakterizace konopí vyžaduje podrobnější analýzu celého spektra fytkanabinoidů a dalších biologicky aktivních látek. Cílem této práce bylo analyzovat 47 fytkanabinoidů metodou UHPLC-HRMS v ethanolových extraktech konopí a charakterizovat tak 13 vzorků různých kultivarů léčebného konopí (12 z chemotypu I = vyšší obsah THCA/THC než CBDA/CBD a 1 chemotypu III = vyšší obsah CBDA/CBD).

Výsledky analýz ukázaly, že obsah fytkanabinoidů v jednotlivých vzorcích se pohyboval v rozmezí 10,4 až 28,3 hm. %. Zajímavé bylo zjištění, že v odrůdě z chemotypu III byl zjištěn vyšší (36krát) obsah *cis*- Δ 9-THC a než běžně sledovaného *trans*- Δ 9-THC. Dále také výsledky ukazují, že HHC (hexahydrokanabinol), který může být přírodně se vyskytující i semisyntetický kanabinoid, nebyl obsažen v množství nad limitem kvantifikace ani v jednom ze vzorků, a to ani v jedné ze svých konfigurací (S/R). Tento fakt napovídá, že výrobky obsahující HHC označované jako „přírodní“ často využívají tuto nálepku částečně neprávem jako marketingový tah.

Výskyt mykotoxinů v rostlinných alternativách masa

Bc. Ema Vítová (M1)

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

V posledních letech roste zájem o rostlinné alternativy masa, což je způsobeno snahou o udržitelnou výrobu, rostoucí populací a také osobními zdravotními a etickými důvody. Tyto produkty přispívají nejen k ochraně životního prostředí a minimalizaci negativních dopadů spojených s chovem zvířat, ale nabízejí také různé zdravotní výhody. Nicméně zvýšená konzumace těchto produktů může představovat potenciální riziko pro lidské zdraví, zejména kvůli přítomnosti mykotoxinů, které kontaminují mnoho plodin využívaných pro výrobu rostlinných alternativ masa. Díky jejich vysoké stabilitě se tyto kontaminanty dále dostávají až do finálních produktů.^[1] Cílem této práce bylo rozšíření probíhajícího výzkumu zaměřeného na stanovení mykotoxinů v rostlinných alternativách masa a surovinách pro jejich výrobu dostupných na českém trhu. Bylo provedeno stanovení 58 mykotoxinů z různých tříd ve 12 vzorcích sójových bobů, které slouží jako surovina pro výrobu tofu, mouk, proteinových izolátů/koncentrátů a mnoha výrobků rostlinných alternativ masa. Pro extrakci analytů byla použita modifikovaná metoda QuEChERS a analýza byla provedena pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií. Zároveň bylo provedeno hodnocení expozičních rizik.

(1) Augustin Mihalache, O.; Dellafiora, L.; Dall'Asta, C. A systematic review of natural toxins occurrence in plant commodities used for plant-based meat alternatives production. *Food Res. Int.* **2022**, *158*, 111490.

Analytická strategie pro autentikaci celého a mletého pepře

Jméno: Bc. Karel Wünsche (M2)

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

Vysoká cena a velký obchodní objem dělá z koření výhodnou komoditu pro falšování. Z monitoringu EU (2019–2021) vyplývá, že pepř byl jedním z nejčastěji falšovaných druhů koření. Proto byla tato práce zaměřena na vývoj analytické strategie pro autentikaci pepře černého (*Piper nigrum* L.) a pepře dlouhého (*Piper longum* L.) v celé i mleté formě. Cílem bylo vybrat optimální extrakční rozpouštědlo, analytickou kolonu a mobilní fáze tak, aby došlo k extrakci, separaci a detekci co nejvyššího počtu signifikantních proměnných, které by významně diskriminovaly falšované vzorky od vzorků autentických. Mezi adulteranty pepře černého, které byly sledovány, patřila semena papáji a plody pohanky. V případě adulterantů pepře dlouhého byla pozornost věnována pepři černému a plodům pohanky. Jako nástroj byla využita kapalinová chromatografie s vysokorozlišovací hmotnostně spektrometrickou detekcí. Pro zpracování dat bylo využito metod jednorozměrné i vícerozměrné statistické analýzy, pomocí nichž mohly být vybrány podmínky analýzy, při nichž docházelo k záchytu co nejvyššího počtu potenciálních markerů a dále mohly být určeny potenciální markery pepře černého, dlouhého a jejich adulterantů. Jako nejvhodnější se ukázalo měření acetonitrilového extraktu na reverzní fázi v negativním módu ionizace.

Charakterizace vybraných sýrů pomocí infračervené spektrometrie ve střední oblasti

Bc. Anastasiia Zhivaeva (M2)

Školitel: Prof. Dr. Ing. Jan Poustka

FTIR-MIR je často používanou metodou analýzy složitých matričních produktů, jako jsou sýry, efektivně určující jejich složení, vlastnosti a biochemické procesy probíhající během jejich zrání. Tato studie se zaměřila na použití metody FTIR ve střední oblasti pro analýzu sýrů v různých fázích zrání.

Pro účely testování metody byly použity komerční vzorky sýra typu Gouda s různou dobou zrání – Gerold, Zaalandr a Gouda. Nejvíce informativní pro sledování změn byly oblasti spektra 3000-2800 (C-H vibrace v mastných kyselinách) a 1750-980 cm^{-1} . Zatímco Gerold neprokázal významné změny v profilu spektra s prodlužující se dobou zrání, u Zaalandra a Gouda byly patrné jak kvantitativní, tak kvalitativní změny spektra. Také s prodlužováním doby zrání byly pozorovány nové píky – 1522 a 1585 cm^{-1} , což může naznačovat pokračující biochemické procesy v sýrech s delší dobou zrání. Zpracování dat FTIR v kombinaci s chemometrií pomocí softwaru SIMCA a TQ Analyst dobře rozlišovalo vzorky v závislosti na době zrání. Metoda PLS-DA se ukázala jako přesnější než PCA. Metoda FTIR-MIR tak prokázala svoji použitelnost při monitorování procesů zrání sýrů typu Gouda s prodlouženou dobou zrání.

Ústav konzervace potravin (324)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

SEZNAM SEKCI

1. Konzervace potravin

Konzervace potravin

MÍSTO: B22

KOMISE

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

Ing. Filip Beňo, Ph.D.

Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 **Bc. Zdeněk Böhm** (M2, Ing. Lenka Votavová, Ph.D.)

Posuzování zdravotní nezávadnosti výrobků z přírodních materiálů určených pro styk s potravinami

09:15 **Bc. Adéla Janků** (M2, doc. Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D.)

Hodnocení tepelného opracování masných výrobků v plastových a skleněných obalech

09:30 **Bc. Petra Krajsová** (M2, doc. Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D.)

Stanovení podílu masa v masných výrobcích a polotovarech

09:45 **Bc. Mária Erika Kristofčáková** (M2, prof. Dr. RNDr. David Sýkora)

*Melissopalynológia a stanovenie kvalitatívnych znakov vietnamských medov z druhov *Coco spp.*, *Melaleuca spp.* a *Hevea spp.**

10:00 **Bc. Monika Šestáková** (M2, Ing. Iveta Horsáková, Ph.D.)

Využití inovačních technologií při výrobě fermentovaných potravin

10:15 **Bc. Stanislav Vojtíšek** (M2, Ing. Filip Beňo, Ph.D.)

Vliv ošetření na vlastnosti čerstvého masa v průběhu zrání

10:30 **Barbora Tichá** (B3, Ing. Filip Beňo, Ph.D.)

Hybridní masné výrobky

10:45 **Bc. Anna Zelenková** (M2, doc. Ing. Helena Čížková, Ph.D.)

Analýza profilů těkavých látek pro hodnocení kvality zpracovaných potravin

11:00 **vyhlášení výsledků**

SPONZOŘI - ÚSTAV KONZERVACE POTRAVIN

MARS WRIGLEY



Posuzování zdravotní nezávadnosti výrobků z přírodních materiálů určených pro styk s potravinami

Bc. Zdeněk Böhm

Výrobky a materiály určené pro styk s potravinami vyrobené z přírodních materiálů se rozšířily díky zákonu č. 243/2022 Sb., který definitivně zakázal výrobu jednorázových plastových produktů. Začala se tak více řešit alternativa, která by plast nahradila. Jako vhodnou náhradou se jeví primárně materiály jako bambus, rýže, papír, sláma, používané pro výrobu brček. Dřevo k výrobě příborů a papír pro výrobu jednorázového nádobí. Vyvstávají však otázky, zda tyto materiály jsou vhodnou, případně opravdu přírodní a pro člověka bezpečnou alternativou. Cílem této práce je analyzovat látky vyskytující se v těchto materiálech, identifikovat je a zjistit, zda mají potenciální nebezpečí pro lidský organismus. Bylo analyzováno celkem osm vzorků z přírodních materiálů jako je bambus, dřevo, papír a rýže. Tyto vzorky byly podrobeny extrakci v rozpouštědle, kterým byl hexan a isopropanol. Dále byl proveden migrační test do 96 % ethanolu po dobu 10 dní při teplotě 60 °C. Vzorky byly analyzovány pomocí metod GC-MS a SPME. Ve vzorcích byly primárně nalezeny látky, které pro člověka nepředstavují žádné zásadní nebezpečí. Byly zde však také identifikovány látky, které mohou být potenciálně nebezpečné, či látky, které prokazatelně způsobují toxicitu například u hlodavců či menších zvířat.

Hodnocení tepelného opracování masných výrobků v plastových a skleněných obalech

Bc. Adéla Janků

Tepelné opracování potravin je jednou z nejstarších a nejběžnějších metod konzervace, jejímž hlavním cílem je uchování a prodloužení trvanlivosti potravin a vytvoření požadovaných organoleptických vlastností. Optimální nastavení teploty a doby ohřevu je klíčové pro efektivní snížení mikrobiální kontaminace produktu na takovou úroveň, která zajistí jeho zdravotní nezávadnost a stabilitu po celou dobu trvanlivosti. Kromě teplotních a časových parametrů je při výběru vhodného tepelného opracování nezbytné zohlednit i další faktory, jako je například chemické složení ošetřovaného produktu, typ obalového materiálu nebo geometrii obalu. V rámci výzkumu byla porovnána rychlost ohřevu jednoduchých modelových matric v plastových a skleněných obalech. Dále byly tepelně ošetřené masné výrobky (maso ve vlastní šťávě) podrobeny skladovacím experimentům (10 dní/15 °C), u kterých byla hodnocena mikrobiální a oxidační stabilita. Výsledky ukázaly, že ačkoliv mikrobiální růst byl u obou vzorků podobný, míra oxidace tuků byla odlišná: u vzorku v plastovém obalu oxidace tuků postupně narůstala, zatímco ve skleněném obalu byla oxidace zpočátku nízká, ale v průběhu skladování došlo k jejímu výraznému zvýšení. V prvních dnech skladování byly rovněž patrné vizuální rozdíly v barvě obou produktů. Tento výzkum a další experimenty mohou přispět k optimalizaci výběru obalových materiálů a tvarů obalů pro tepelné opracování a skladování potravin, například u produktů jako jsou hotová jídla určená pro rychlá občerstvení.

Stanovení podílu masa v masných výrobcích a polotovarech

Bc. Petra Krajsová

Problematika falšování a podvody spojené s klamáním spotřebitele jsou v oblasti zpracování masa a výroby masných výrobků a polotovarů vážným problémem: Možné důsledky takového jednání se mohou odrážet ve snížené důvěře spotřebitelů, což může mít pro provozovatele potravinářských podniků závažné ekonomické dopady. Identifikace a podíl různých druhů masa v masných výrobcích a polotovarech je velmi aktuální problematikou, kterou se zabývají odborníci a dozorové orgány. V současné době jsou pro určování obsahu masa využívány klasické analytické metody, které stanovují pouze celkový podíl masa v masných produktech. Metody nedokážou rozlišit použití jednotlivých živočišných druhů a jejich zastoupení v masném produktu. Jednou z možných metod, která má potenciál pro identifikaci a stanovení podílu masa v masných výrobcích je PCR metoda. Cílem práce bylo navrhnout a ověřit metodiku na principu PCR analýzy pro stanovení procentuálního zastoupení jednotlivých druhů masa (hovězí a vepřové maso) v masných produktech (mletá masa, masné polotovary). V rámci práce byly připraveny a vyhodnoceny směsi vepřového a hovězího masa o různém obsahu tuku a kolagenu v surovině tak, aby simulovaly možné zastoupení suroviny v masných produktech. Výsledky z PCR metody byly porovnány s výsledky analytických rozborů jednotlivých druhů mletých mas a jejich směsí a potvrdily možný potenciál metody PCR jako nástroje pro stanovení podílu jednotlivých druhů masa.

Melissopalynológia a stanovenie kvalitatívnych znakov vietnamských medov z druhov Coco spp., Melaleuca spp. a Hevea spp.

Bc. Mária Erika Kristofčáková

Med z juhovýchodnej Ázie patrí k najpredávanejším na globálnom trhu, čo je spôsobené jeho približne štvornásobne nižšou cenou napr. v porovnaní s českými medmi. Napriek rastúcej prítomnosti vietnamských medov na potravinovom trhu sú vedecká literatúra, štúdie a články o nich relatívne obmedzené a ťažko dohľadateľné. V tejto práci sa zaoberám analýzou vybraných vietnamských medov druhov Coco spp. (kvetový a medovicový), Melaleuca spp. (kvetový) a Hevea spp. (medovicový). Stanovovala som obsah enzýmu diastázy (spektrofotometricky), obsah 5-hydroxymetylfurfuralu (HMF) metódou HPLC-DAD, a vykonala som peľovú analýzu (melissopalynológia) pomocou semiautomatickej mikroskopie na Veterinárnej univerzite v Brne. Aktuálne pracujem na stanovení sacharidov metódou vysokoúčinnnej ióntovej chromatografie s PAD detektorom. Analýza sacharidového profilu medov, by mohla v našom výskume prispieť k celkovému hodnoteniu jeho autenticity. Pri vykonaných analýzach som porovnávala najmä parametre čerstvosti a stability. Niektoré výsledky, najmä u kokosového medovicového medu (nízke hodnoty diastázy, nízke koncentrácie HMF, problematická peľová analýza, gumová textúra) a kokosového kvetového medu (vysoké koncentrácie HMF), poukazujú na odchýlky od európskych noriem, čo otvára diskusiu o legislatívnych limitoch a analytických metódach používaných pri kontrole autenticity a analýze vybraných fyzikálno-chemických parametrov medov z juhovýchodnej Ázie.

Využití inovačních technologií při výrobě fermentovaných potravin

Bc. Monika Šestáková

Tradiční fermentované potraviny mají u nás dlouhou historii a i v současné době jsou velmi oblíbené. Většina výrobků se vyrábí podle tradičních receptur, např. u sušené šunky se používá receptura, která zahrnuje nasolování, sušení a zrání. Celý proces tradiční výroby může trvat měsíce až roky. Tato práce se zabývá vlivem startovacích kultur na délku procesu a kvalitu výrobku typu pršut. Vstupní surovina vepřová pečeně bez kosti byla nejprve zmrazena kvůli rozrušení struktury masa a inaktivaci citlivých mikroorganismů, a následně byla naložena do solné lázně. Byly vytvořeny 3 sady vzorků podle typu fermentace, a to fermentace spontánní, autochtonní kulturou a komerční kulturou. Vzorky byly sušeny po dobu šesti týdnů při teplotě 4 °C a sedmý týden probíhalo zrání při 12 °C. V průběhu výroby byla zkoumána aktivita vody, pH, barva, textura, obsah soli a v konečných fázích byl proveden mikrobiologický rozbor. U všech vzorků poklesla a_w pod 0,85 a konečné pH se pohybovalo okolo 5,80. Zároveň došlo vlivem sušení k ztvrdnutí vzorků, změně barvy a navýšení obsahu soli oproti vstupní surovině. V 6. týdnu výroby obsahovaly vzorky s autochtonní a komerční kulturou vyšší koncentrace bakterií mléčného kvašení a *Staphylococcus spp.* Během zrání nastal rozvoj nežádoucí mikroflóry, a proto nebyla provedena senzorická analýza.

Vliv ošetření na vlastnosti čerstvého masa v průběhu zrání

Bc. Stanislav Vojtíšek

Proces zrání je naprosto zásadní pro rozvoj klíčových vlastností čerstvého masa. V rámci tohoto procesu dochází ve svalovině ke změnám, které ovlivňují výsledné nutriční (např. oxidace bílkovin a tuků), senzorické (např. textura, chuť a barva) a technologické vlastnosti masa (vaznost vody, difuze soli při nasolování, odpařování). Přirozeně je tento proces zprostředkován pomocí nativních proteolytických enzymů masa, ale tento proces je z časového hlediska velmi náročný. Pro hovězí maso se může jednat o časový úsek trvající déle než měsíc. V minulosti byla prostudována řada možností, pomocí kterých je možné zrání urychlit. Principiálně se jednalo o ošetření chemické (louhování masa v roztoku chloridu vápenatého, změna pH pomocí solí), biochemické (zahřátí masa na teplotu 50–57 °C po dobu 2–3 hodin, čímž se dosáhne zvýšení aktivity katepsinů nebo přidavek exogenních enzymů) nebo fyzikální (ultrazvuk, pulzní elektrické pole). Tato práce se zaměřuje právě na účinek ultrazvuku a jeho možný pozitivní vliv na proces zrání masa. Vzorek hovězího masa (kýta – *glutaeus semitendinosus*) byl podroben ošetření ultrazvukem a následně podstoupil mokré zrání po dobu 16 dní při teplotě 2 °C. V průběhu zrání byly u ošetřeného masa a kontrolního vzorku sledovány vybrané kvalitativní parametry – křehkost, myofibrilární fragmentace (MFI), hmotnostní úbytek, pH, vodivost a oxidace bílkovin.

Hybridní masné výrobky

Barbora Tichá

S rostoucí světovou populací a poptávkou po potravinách představují hybridní masné výrobky (HMY) nové inovativní řešení, jak lze snížit poptávku po čistě masných výrobcích a zároveň jsou reakcí na nynější trend zdravějších a udržitelnějších výrobků. Není ustálená přesná definice, jedná se o kombinaci tradičního masného výrobku s různými přísadami alternativních surovin (rostlinné proteiny, luštěniny, houby, jedlý hmyz, hlemýždi, sýr apod.). Tato práce se zabývá hledáním „ideální“ kombinace a poměru alternativní složky ku masu, tak aby byly zachovány přijatelné organoleptické vlastnosti a zvýšila se nutriční hodnota výrobku. V rámci této práce byla hodnocena mikrobiální a chemická stabilita (28 dní), fyzikálně-chemické parametry a organoleptické vlastnosti hybridních masných výrobků s přísadami (5 a 10 %) hrachového proteinu nebo cizrny. Hrachový protein během skladování významně zvýšil mikrobiální stabilitu ($p < 0,05$), ale urychlil žluknutí výrobku ($p < 0,05$) a zvýšil jeho tuhost ($p < 0,05$). Lepších výsledků bylo dosaženo v případě cizrny, která neovlivnila chemickou stabilitu ($p > 0,05$) a neměla významný vliv na organoleptické vlastnosti ($p < 0,05$) oproti kontrolním vzorkům.

Analýza profilů těkavých látek pro hodnocení kvality zpracovaných potravin

Bc. Anna Zelenková

Předmětem příspěvku je proces optimalizace přípravy vzorku a postupu analýzy těkavých látek pro strojně oddělené produkty rybolovu (konkrétně strojně oddělené kapří maso). Těkavé látky mohou sloužit ke komplexnímu sledování kvality potravin, jelikož mohou být ukazateli mikrobiální činnosti, oxidace lipidů, ale i některých dalších dějů souvisejících se změnou kvality. Z těkavých látek se ještě vyčleňuje skupina látek sensoricky aktivních, které se podílejí na vzniku aroma potravin a rovněž tak mohou ovlivňovat vnímání kvality. K analýze těkavých látek byla použita izolační technika HS-SPME následována plynovou chromatografií s hmotnostně spektrometrickým detektorem. V rámci práce byla testována dvě SPME vlákna o odlišném složení, různé úpravy chromatografických podmínek a předúprava vzorku a jejich vlivy na konečný chromatografický záznam. Na základě zjištěné citlivosti, výtěžnosti a opakovatelnosti byla poté vybrána metoda pro účely určení případných odlišností v profilech těkavých látek v závislosti na použité surovině a podmínkách skladování.

Ústav chemie přírodních látek (342)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Elena Prokudina, Ph.D.

SEZNAM SEKCI

1. Ústav chemie přírodních látek - syntéza
2. Ústav chemie přírodních látek - analýza

Ústav chemie přírodních látek - syntéza

MÍSTO: RESPIRIUM

KOMISE

Doc. Dr. Ing. Ivan Raich (předseda)

Ing. Petr Štěpánek, Ph.D.

RNDr. Tomáš Slanina, Ph.D.

PROGRAM

9:00 **zahájení**

Bc. Lenka Bendová (Mgr. 1. ročník)

Stereoselektivní syntéza izotopově značených ^{15}N -aminosacharidů

Bc. Ondřej Bilák (Mgr. 2. ročník)

Syntéza a charakterizace derivátů artemisininu s 3,5-difluorofenylovou skupinou

Bc. Martin Janský (Mgr. 2. ročník)

Syntéza analytických standardů tropanových derivátů jako potenciálních inhibitorů fosfodiesterázy typu 5

Bc. Viktor Káčerik (Mgr. 2. ročník)

Príprava nových inhibitorov gamma-tubulinu

Bc. Lenka Musílková (Mgr. 2. ročník)

Lipidy pro spontánní cykloadiční reakce na povrchu liposomálních formulaic

Bc. Valerie Zachariášová (Mgr. 2. ročník)

*Detekce chirálních přírodních látek a jejich derivátů pomocí
enantiodiskriminativní SERS analýzy*

Bc. Kateřina Žďárková (Mgr. 1. ročník)

*Příprava a charakterizace BODIPY značených kolchicinů a jejich biologická
evaluace*

SPONZOŘI - ÚSTAV CHEMIE PŘÍRODNÍCH LÁTEK



vesmír
L'ORÉAL

MERCK

Stereoselektivní syntéza izotopově značených 15N-aminosacharidů

Autor: Bc. Lenka Bendová

Ročník studia: M1

Školitel: Ing. Kamil Parkan, Ph.D.

Aminosacharidy jsou důležitými složkami mnoha biomakromolekul a produktů sekundárního metabolismu jako jsou například antibiotika.¹ Konkrétně 2,3-diamino-2,3-dideoxy-glykosidy jsou důležitou složkou lipidu A, bakteriálních lipopolysacharidů a kapsulárních polysacharidů, které jsou klíčovými virulentními faktory u různých patogenních bakterií.² Cílem této práce bylo optimalizovat přípravu těchto látek s využitím Ferrierova přesmyku a Michaelovi adice. Dále pak připravit izotopově značené deriváty ¹⁵N. Výskyt ¹⁵N jader je přirozeně velmi nízký. Izotopové značení zvyšuje citlivost v ¹⁵N NMR spektroskopii, a je díky tomu možné charakterizovat drobné změny konformace ve struktuře těchto molekul.³ V rámci experimentů byly sledovány ¹⁵N-¹³C a ¹⁵N-¹H heteronukleární spin-spinové interakce, z kterých bylo následně možno pomocí Karplusovy rovnice vypočítat vazebné úhly, a porovnat je s hodnotami molekulového modelování. Značené ¹⁵N-disacharidy by také mohly být přínosné v NMR vazebných studiích s lektiny, kde změna ¹⁵N chemického posunu, tvar signálu nebo štěpení signálu ¹H může poskytnout důležité informace o vazebných událostech, síle interakce a odhalit strukturní detaily komplexu N-disacharid-lektin.

1. Skarbek, K.; Milewska, M. J. Biosynthetic and synthetic access to amino sugars. *Carbohydr. Res.* **2016**, *434*, 44-71.
1. Wu, X.; Zheng, Z.; Wang, L.; Xue, Y.; Liao, J.; Liu, H.; Liu, D.; Sun, J.-S.; Zhang, Q. Stereoselective Synthesis of 2,3-Diamino-2,3-dideoxyglycosides from 3-O-Acetyl-2-nitroglycals. *Eur. J. Org. Chem.* **2022**, *2022* (26), e202200519.
2. Marek, R.; Lyčka, A. ¹⁵N NMR spectroscopy in structural analysis. *Curr. Org. Chem.* **2002**, *6* (1), 35-66.

Syntéza a charakterizace derivátů artemisininu s 3,5-difluorofenylovou skupinou

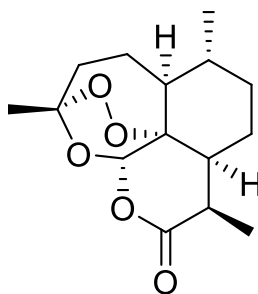
Autor: Bc. Ondřej Bilák

Ročník studia: M2

Školitel: Ing. Michal Jurášek, Ph.D.

Malárie, Chagasova choroba, spavá nemoc – pouze někteří z mnoha zástupců tzv. opomíjených tropických nemocí (angl.: *Neglected Tropical Diseases*). Podle Světové zdravotnické organizace bylo v souvislosti s těmito onemocněními jenom v roce 2022 lékařsky ošetřeno přibližně 1,62 miliardy lidí, a to především v jihovýchodní Asii a na Africkém kontinentě. Významným milníkem v boji s původci těchto onemocnění byl objev a izolace přírodní látky artemisinin v 70. letech minulého století. Ačkoliv je artemisinin znám především jako léčivý antimalarický přípravek, chemické modifikace jeho základní struktury otevírají dveře k objevům celé řady dalších potentních bioaktivních látek s širší a účinnější antiparazitickou a protinádorovou aktivitou.

Tato práce se zabývá syntézami nových derivátů artemisininu s kovalentně vázanou 3,5-difluorofenylovou skupinou vycházejícími z komerčně dostupného dihydroartemisininu. K charakterizaci a jednoznačnému určení chemické struktury připravených derivátů bylo použito technik hmotnostní spektrometrie a nukleární magnetické rezonance. Následně byla *in vitro* stanovena cytotoxicita a antiparazitická aktivita těchto derivátů pomocí standardní metodologie s využitím thiazolylové modře (MTT bioassay). Jako modelové organismy byly použity *Trypanosoma cruzi* a *Leishmania mexicana*.



Artemisinin

Syntéza standardů "catuabinů" – tropanových derivátů vyskytujících se v přírodních produktech zvaných „Catuaba“

Autor: Bc. Martin Janský

Ročník studia: M3

Školitelé: Doc. Ing. Martin Kuchař PhD., Ing. Hana Walaská, Ing. Petr Palivec

Erektilní dysfunkce (ED) ovlivňuje kvalitu života mnoha mužů. Její léčba vyžaduje komplexní přístup kombinující farmakoterapii, psychosexuální terapii a změny životního stylu. Syntetické inhibitory PDE5, jako je sildenafil, jsou při terapii ED léky první volby, často však mají nežádoucí účinky, jako je arytmie, priapismus či interakce s jinými léky. To vede k rostoucímu zájmu o přírodní léčebné alternativy, mezi které patří mimo jiné škornice, yohimbin nebo catuaba.

Catuaba, tradiční brazilský afrodiziakální přípravek, představuje přírodní alternativu léčby ED. Problémem těchto produktů je nejednoznačný původ. Za původce catuaby je označováno mnoho různých druhů rostlin. K nejčastěji zmiňovaným patří *Trichilia catigua* a *Erythroxylum vacciniifolium*. Toto způsobuje nejasné rostlinné i chemické složení produktů dostávajících se i na český trh. K analýze rostlinného původu produktů na trhu je pro spolehlivé přiřazení třeba získat vzorky standardů hlavních bioaktivních látek jednotlivých rostlin. Komerčně dostupné jsou však pouze vzorky cinchonainů, flavonoidů, obsažených v *T. catigua*. Vzorky catuabinů, bioaktivních látek, obsažených v *E. vacciniifolium*, komerčně dostupné nejsou. Jejich extrakce v dostatečném množství je velmi náročná, a to nejen kvůli nejasnému původu většiny dostupných produktů. Tato práce se ve své první části věnuje syntéze těchto tropanových alkaloidů a vytváří teoretický základ pro budoucí výzkum zaměřený na kontrolu kvality a bezpečnosti těchto přípravků.

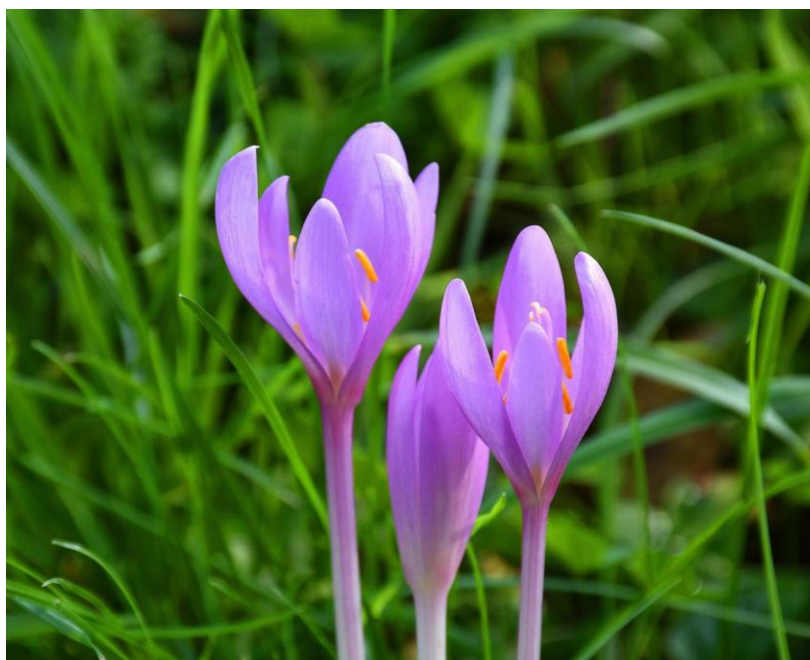
Príprava nových inhibitorov gamma-tubulinu

Autor: Bc. Viktor Káčerik

Ročník studia: M2

Školitel: Ing. Michal Jurášek PhD.

Kolchicín, prírodná látka izolovaná z *Colchicum autumnale*, ktorý práve v tomto období dokvitol, tvorí základ pre vývoj a modifikáciu jeho derivátov, zameraných na zvýšenie selektivity a účinnosti pri inhibícii tubulínových mechanizmov v rakovinových bunkách. Moja práca nadväzuje na existujúci inhibitor gamma-tubulínu vyvinutý v našom laboratóriu, pričom sa zameriavam na jeho modifikáciu s cieľom sledovať vzťah medzi štruktúrou a biologickou aktivitou a maximalizovať selektivitu voči *gamma*-tubulínu. Séria modifikácií prebieha na pozíciách C-4, C-7 a C-10 kolchicínu, pričom na C-7 využívam triazolový linker so substituovaným arylom a pripojeným BODIPY farbivom. Táto konfigurácia umožňuje sledovanie polymerizácie tubulínu na bunkovej úrovni. Účinnosť derivátov sa testuje na rôznych rakovinových bunkových líniiach a hodnotí pomocou IC₅₀. Prezentácia zahŕňa syntézu a charakterizáciu série týchto látok.



Lipidy pro spontánní cykloadiční reakce na povrchu liposomálních formulaic

Autor: Bc. Lenka Musílková

Ročník studia: M2

Školitel: Ing. Roman Effenberg, Ph.D.

Liposomy představují jedny z nejvíce zkoumaných a aplikovaných nosičů pro transport léčiv. Modifikace složení lipidů v liposomálních membránách, včetně integrace cyklooktynových struktur, umožňuje přesně kontrolovat jejich vlastnosti tak, aby vyhovovaly specifickým požadavkům pro různé terapeutické aplikace. Cílem práce je příprava kolipidů (pomocných lipidů) vhodných ke konstrukci liposomů, které bude možné po jejich formulaci modifikovat biologicky aktivními molekulami, případně fluorescenčními značkami. Byly syntetizovány hydrofobní domény námi navržených kolipidů nesoucí symetricky větvenou mastnou kyselinu v poloze C-2, cholesterol a dipalmitoyllysin. Hydrofilní doména se skládá z polyethylenglykolové spojky a dibenzocyklooktynu, případně bicyklo[6.1.0]non-4-ynu. Tyto struktury byly zvoleny z důvodu umožnění cykloadiční adice bez přítomnosti měďných iontů. To je nezbytné zejména u biologických aplikací, kde by přítomnost iontů kovu značně komplikovala využití v humánní medicíně.

Příprava a charakterizace BODIPY značených kolchicinů a jejich biologická evaluace

Autor: Bc. Kateřina Žďárková

Ročník studia: M1

Školitel: Ing. Michal Jurášek, Ph.D.

Kolchicin patří mezi přírodní bioaktivní alkaloidy. Získává se izolací z rostliny *Colchicum autumnale* a je používán při léčbě akutní dny. Vyznačuje se svými antimitotickými vlastnostmi, váže se na $\alpha\beta$ heterodimery tubulinu, což vede k rozpadu mitotického vřeténka během buněčného dělení. Pro svou vysokou toxicitu však nemůže být použit při léčbě rakoviny, což vede k úsilí o syntézu jeho derivátů s nižší toxicitou a vyšší účinností. Značení derivátů kolchicinu pomocí fluorescenčních barviv BODIPY (dipyrrromethenbordifluoridy) umožňuje vizualizovat mechanismus účinku v biologických systémech. V rámci tohoto experimentu se vycházelo ze struktury látky CB4, která byla již dříve nasyntetizována v laboratoři. Nová analoga této látky vycházejí z 1,3-dipolární cykloadice mezi azidokolchicinem a různě alkylovanými BODIPY obsahující pěti-uhlíkatý spojovací můstek. Cílem práce bylo syntetizovat fluorescenční kolchicin-BODIPY deriváty a podrobit je základnímu biologickému testování.

Detekce chirálních přírodních látek a jejich derivátů pomocí enantiodiskriminativní SERS analýzy

Autor: Bc. Valerie Zachariášová

Ročník studia: M2

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

Detekce a rozlišení chirálních přírodních látek hraje klíčovou roli v oblastech analytické, medicíně i forenzní chemie. Obzvláště pokud se jedná o sloučeniny se stereochemicky podmíněnými psychoaktivními účinky. Tato práce se zaměřuje především na detekci epimerů hexahydrokanabinolu (9*R*-/9*S*-HHC) a enantiomerů katinonových derivátů. Hlavními cíli této práce jsou příprava a optimalizace enantioselektivních plasmon-aktivních substrátů na bázi helicenů, a jejich následné použití k enantiodiskriminativní SERS (z angl. *surface-enhanced Raman scattering*) analýze zmíněných látek. Jedná se o inovativní metodu umožňující selektivní rozpoznávání enantiomerů na základě jejich rozdílné interakce s chirálními povrchy. Navíc byla již dříve úspěšně použita k rozlišení např. derivátů L-/D-DOPA. Enantiomery helicenů (modifikátory SERS substrátů) zde uplatňují své jedinečné optoelektronické vlastnosti. Díky nim zprostředkovávají vznik tzv. „chirálních plasmonů“, které působí enantioselektivně vůči opticky aktivním analytům. V rámci této práce budou připraveny zlaté hybridní SPP (z angl. *surface plasmon polariton*) substráty s chirálními selektory na bázi enantiomerně čistých helicenů se sirnou kotvou, které budou následně použity pro SERS analýzu enantiomerů katinonů a epimerů HHC.

Ústav chemie přírodních látek - analýza

MÍSTO: RESPIRIUM

KOMISE

prof. Dr. RNDr. Oldřich Lapčík (předseda)

Ing. Jan Tauchen, Ph.D.

Ing. Jakub Zýka, Ph.D.

PROGRAM

9:00 **zahájení**

Radka Batelková (Bc. 3. ročník)

Stanovení alkaloidů v rostlině Tabernanthe iboga Baill. metodou HPLC-MS

Bc. Evelína Čížková (Mgr. 1. ročník)

Porovnání adaptogenních rostlin: Spektrofotometrické stanovení obsahu saponinů a antioxidační activity

Bc. Maria Kučerková (Mgr. 1. ročník)

Studium farmakokinetiky cykloastragenolu podaného ve formě liposomální formulace

Bc. Adéla Paulusová (Mgr. 2. ročník)

Vliv procesních parametrů na fotokatalytickou degradaci 17 α -ethinylestradiolu na imobilizovaném TiO₂

Bc. Aneta Pintová (Mgr. 2. ročník)

Optimalizace podmínek fotokatalytické degradace metamfetaminu z vody a analýza vznikajících meziproduktů

Bc. Hana Přívratská (Mgr. 2. ročník)

Izolace a identifikace chemotaxonomických markerů rostlin rodu paprika

Bc. Tobiáš Skýpala (Mgr. 1. ročník)

Preparativní HPLC enantioseparace vybraných disociativních anestetik

Bc. David Šmidlík (Mgr. 2. ročník)

Vývoj multiplexní LFIA metody pro analýzu anabolických androgenních steroidů (AAS)

SPONZOŘI - ÚSTAV CHEMIE PŘÍRODNÍCH LÁTEK



vesmír
L'ORÉAL

*Stanovení alkaloidů v rostlině *Tabernanthe iboga* Baill. metodou HPLC-MS*

Autor: Radka Batelková

Ročník studia: B3

Školitel: PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.

Tabernanthe iboga je keř z čeledi toješťovitých (Apocynaceae) vyskytující se v západní Africe, kde je jeho použití silně spjato s duchovními rituály a iniciačními obřady náboženství Bwiti. Kůra kořene této rostliny je bohatá na psychoaktivní alkaloidy. Nejvíce zastoupený alkaloid je ibogain, mezi další patří voacangin, coronaridin a noribogain.

V druhé polovině 20. století se začal ibogain zkoumat pro využití v léčbě závislostí na návykových látkách jako kokain, alkohol a opiáty. Kvůli halucinogenním účinkům a kardiotoxicitě se od mnoha studií ustoupilo a v některých zemích je ibogain na seznamu zakázaných látek.

V ČR jsou přípravky obsahující ibogain volně dostupné, není u nich však známe přesné složení či koncentrace alkaloidů. Cílem této práce je vyvinout vhodnou metodu pro extrakci alkaloidů z kůry a pomocí UHPLC-MS stanovit obsah alkaloidů.

Pro chromatografickou separaci 19 alkaloidů byla zvolena kolona se stacionární fází C18 a jako mobilní fáze 90% acetonitril a 0,1% roztok kyseliny mravenčí. Za účelem optimalizace extrakce alkaloidů z kůry ibogy bylo vyzkoušeno několik rozpouštědel, například metanol, aceton, metanol s přídavkem báze a kyselina octová. Optimální podmínky budou použity pro zpracování reálných vzorků.

Porovnání adaptogenních rostlin: Spektrofotometrické stanovení obsahu saponinů a antioxidační activity

Autor: Bc. Evelína Čížková

Ročník studia: M1

Školitel: PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.

Adaptogenní rostliny jsou hojně využívány v tradiční medicíně. Mají dlouhodobě pozitivní vliv na zvýšení odolnosti organismu proti stresu a napomáhají adaptovat se na fyzickou i psychickou zátěž. Za tyto účinky je odpovědná řada bioaktivních látek ze skupiny saponinů, polyfenolů či steroidů. V rámci této práce jsem se zabývala vývojem dvou spektrofotometrických metod a jejich využitím pro porovnání vybraných adaptogenních rostlin. První metoda slouží ke stanovení celkového obsahu saponinů v rostlinných extraktech. Jedná se o snadnou a instrumentálně nenáročnou metodu vhodnou pro rychlé porovnání obsahu saponinů ve vzorku. Samotná spektrofotometrická metoda je založena na oxidaci saponinů pomocí kyseliny sírové a následné reakci s vanilinem za vzniku barevného produktu. V rámci optimalizace jsem zkoušela různé časy a teploty, při kterých reakce probíhala. Další vyvinutá metoda, sloužící ke stanovení antioxidační aktivity, využívá schopnosti obsažených látek (především polyfenolických) zhaset modelový radikál DPPH. Poté byly vybrané adaptogenní rostliny porovnány pomocí hodnoty IC₅₀. Cílem práce je rychlé a snadné porovnání obsahu saponinů a antioxidační aktivity rostlinných extraktů adaptogenních rostlin, což poskytne další informace o působení těchto rostlin na organismus.

Studium farmakokinetiky cykloastragenolu podaného ve formě liposomální formulace

Autor: Bc. Maria Kučerková

Ročník studia: M1

Školitel: PharmDr. Cihlářová Petra, Ph.D.

Tato práce se zabývá studiem farmakokinetiky cykloastragenolu po podání liposomálních formulací potkanům při využití vysokoúčinné kapalinové chromatografie spřažené s hmotnostní spektrometrií (UHPLC-MS). Cykloastragenol se řadí mezi triterpenické sapogeniny a je možno ho izolovat například z rostlin rodu kozinec (*Astragalus*). Je mu připisováno mnoho farmakologických účinků. Nejvíce je studován pro svou telomerázovou aktivitu, která je spojena s účinkem proti stárnutí. V Národním ústavu duševního zdraví bylo potkanům kmene Wistar intraperitoneálně a orálně aplikováno 0,1 mg kg⁻¹ cykloastragenolu s cílem stanovit přibližnou kinetiku látky jak v krevním oběhu, tak následně ve vybraných tkáních. Nejprve jsem se zaměřila na optimalizaci podmínek separace jako je složení mobilní fáze a optimalizace parametrů iontového zdroje. Dále jsem testovala postupy zpracování matrice. Pro výsledné zpracování matrice jsem vybrala precipitaci proteinů acetonitrem, jelikož poskytl nejlepší hodnoty výtěžnosti a matričního efektu. Vyvinutou metodu jsem aplikovala na reálné vzorky a ze získaných dat jsem vytvořila farmakokinetické profily cykloastragenolu podaného ve dvou velikostech liposomálních formulací. Jako kontrola byl podán cykloastragenol rozpuštěný v oleji. Výstupem práce je porovnání jednotlivých farmakokinetických profilů a zhodnocení prospěšnosti aplikace liposomálních formulací.

Vliv procesních parametrů na fotokatalytickou degradaci 17 α -ethinylestradiolu na imobilizovaném TiO₂

Autor: Bc. Adéla Paulusová

Ročník studia: M2

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

Přítomnost organických polutantů v odpadních vodách je problémem z hlediska ochrany životního prostředí, zdraví lidí a ekosystémů, a také z hlediska legislativních norem na kvalitu vody. Jednou z problematických skupin jsou endokrinní disruptory, které narušují hormonální rovnováhu organismů, což může přispívat k reprodukčním, vývojovým a civilizačním poruchám (kardiovaskulární onemocnění, rakovina, diabetes 2. typu). 17 α -ethinylestradiol (EE2) je syntetický estrogen odolný vůči jaternímu metabolismu, což usnadňuje jeho vstřebávání a prodlužuje účinek. Jedná se o nejčastěji používanou látku v hormonální antikoncepci, kvůli čemu se také vyskytuje v odpadních vodách v nezanedbatelné koncentraci, a to i po přečištění. Fotokatalytická degradace polutantů na imobilizovaném TiO₂ ve vodě představuje účinný způsob, jak koncentraci EE2 snížit. Využívá UV záření k aktivaci TiO₂, což vytváří reaktivní kyslíkové radikály schopné rozkládat organické polutanty. Efektivitu procesu ovlivňují klíčové parametry, jako množství fotokatalyzátoru, intenzita UV záření nebo plocha na kterou je fotokatalyzátor nanesen. Přítomnost dalších látek v matici má také vliv na reakci.

Cílem práce je zjistit vliv klíčových parametrů na účinnost fotokatalytické degradace EE2 pomocí imobilizovaného TiO₂ a získané informace použít pro optimalizaci experimentu s cílem maximální konverze EE2 na produkty a tím snížení jeho estrogenní aktivity.

Optimalizace podmínek fotokatalytické degradace metamfetaminu z vody a analýza vznikajících meziproductů

Autor: Bc. Aneta Pintová

Ročník studia: M2

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

Fotokatalytická degradace je jednou ze slibných metod dodatečné úpravy vody, jejichž vývojem se v posledních letech zabývá celá řada studií. Vyvinuté postupy by v budoucnu mohly být implementovány do provozu konvenčních čistíren odpadních vod (ČOV) a úpraven pitné vody za účelem odstranění bioaktivních mikropolutantů z vody. Do kategorie mikropolutantů patří například léčiva, omamné a psychotropní látky, pesticidy nebo hormonální doplňky stravy, které se ve vodě obecně vyskytují ve velmi nízkých koncentracích ($\mu\text{g/l}$), a proto jsou odolné vůči běžným čistícím procesům využívaným v ČOV. To má za následek jejich hromadění v podzemních i povrchových vodách a jejich chronické působení na živé organismy, které může mít fatální ekologické dopady.

Mezi zmíněné mikropolutanty patří také metamfetamin (MAA), jehož vysoká konzumace a produkce je v České republice dlouhodobým problémem, a proto je jeho koncentrace v českých odpadních vodách zdaleka nejvyšší ve srovnání s ostatními evropskými státy. Především z tohoto důvodu byl jako analyt pro tento výzkum vybrán právě tento psychostimulant.

Cílem této práce bylo optimalizovat podmínky fotokatalytické degradace MAA z hlediska použité intenzity UV záření a použité formy fotokatalyzátoru – TiO_2 . Dále bylo mým cílem ověřit, jaký vliv má na rychlost degradace použitá matrice a počáteční koncentrace MAA v roztoku. Dalším krokem mého výzkumu byla mimo jiné analýza vznikajících meziproductů MAA a vyhodnocení kinetiky nejvýznamnějších z nich.

Izolace a identifikace chemotaxonomických markerů rostlin rodu paprika

Autor: Bc. Hana Přivratská

Ročník studia: M2

Školitel: Ing. Elena Prokudina, Ph.D.

Rod paprika (*Capsicum*) je známý mimo jiné díky tropickým taxonům poskytujícím plody pálivé chuti, která je způsobena obsahem sekundárních metabolitů, kapsaicinoidů. Kromě kapsaicinoidů však některé taxony obsahují i jejich nepálivé analogy – kapsinoidy – které mají podobné farmakologické vlastnosti. Jejich výhodou může být nižší neurotoxicita a příjemnější senzorický vjem při podání člověku. Kromě kapsinoidů se v paprikách vyskytují i další, pro tento rod specifické látky (chemotaxonomické markery), o jejichž biologických vlastnostech není mnoho známo. Proto se tato práce v prvním kroku zaměřila na pěstování vybraných taxonů paprik z Peruánské Amazonie a Japonska, u kterých je již zdokumentovaná přítomnost zmíněných látek.

Sazenice byly nejprve ze semen předpěstovány ve vnitřním prostředí pod umělým osvětlením a poté byly přesazeny na venkovní stanoviště. Takto byly vypěstovány Aji Dulce, Aji Mirasol, Aji Limo, Aji Pucunucho, Aji Charapita, Aji Charapon, Rocoto a CH-19. Sklizené plody byly lyofilizovány, zpracovány a podrobeny extrakci. Extrakty byly frakcionovány pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu. S využitím komerčně dostupných standardů byla vyvinuta semipreparativní HPLC-DAD metoda na reverzní fázi, která v kombinaci s LC-MS umožňuje identifikovat frakce s obsahem zájmových látek.

Preparativní HPLC enantioseparace vybraných disociativních anestetik

Autor: Bc. Tobiáš Skýpala

Ročník studia: M1

Školitel: Ing. Natalie Paškanová

Disociativní anestetika (DA) odvozená od ketaminu mají potenciál ve farmaceutickém průmyslu, bohužel podobně jako ketamin, bývají také zneužívané pro své psychotropní účinky. Cílem práce je s využitím vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) chirálně separovat sérii nově syntetizovaných DA strukturně odvozených od ketaminu. Takto získané enantiomery mohou být podrobeny další analýze, charakterizaci a poslouží hlubšímu pochopení jejich chemických ale i farmakologických vlastností.

Pro získání jednotlivých enantiomerů vybraných 14 DA byly testovány 4 polysacharidové chirální stacionární fáze. Úspěšné separace bylo dosaženo až po optimalizaci mobilní fáze, kde bylo zjištěno, že druh alkoholu a jeho obsah má na chromatografické parametry klíčový vliv. Bylo dokázáno, že pro dosažení dostatečného rozlišení jednotlivých enantiomerů neexistuje univerzální metoda enantioseparace i navzdory tomu, že nejvíce separovaných látek bylo pomocí kolony Phenomenex Lux Amylose-2 s mobilní fází heptan/alkohol (97,5/2,5; v/v) Nakonec bylo úspěšně enantioseparováno a izolováno všech čtrnáct nových DA. Izolované enantiomery byly podrobeny spektrometrickým studiím, pomocí nichž lze například určit absolutní konformaci a určit tak eluční pořadí enantiomerů.

Vývoj multiplexní LFIA metody pro analýzu anabolických androgenních steroidů (AAS)

Autor: Bc. David Šmidlík

Ročník studia: M2

Školitel: Ing. Elena Prokudina, Ph.D.

Práce je zaměřena na vývoj multiplexní imunochromatografické metody (LFIA) pro detekci anabolických androgenních steroidů (AAS) v doplňcích stravy. Díky strukturní podobnosti AAS získaná antiséra vykazují křížovou aktivitu s dalšími AAS, než proti kterým byla připravena. Tohoto jevu lze využít při vývoji skupinově selektivních immunoanalytických metod. Výběr kombinace antisér, která odpovídá požadovaným parametrům (křížová reaktivita a senzitivita), zajistí selektivitu metody. Vyvinutá metoda může přispět k vyšší bezpečnosti doplňků stravy a potravin, u nichž hrozí riziko výskytu nedeklarovaných AAS. Tyto příměsi představují riziko nejen pro profesionální sportovce, kteří jsou pravidelně testováni na zneužívání AAS. I nízké koncentrace AAS totiž ohrožují zdraví jedince a narušují hormonální rovnováhu.

Kombinace imunoreagencií z depozitáře ÚCHPL byly zvoleny tak, aby umožnily detekci co nejširšího spektra AAS. Kombinace antisér byla zvolena následovně: PL99 připravena proti nortestosteronu, PL185 připravena proti drostanolonu, PL212 připravena proti stanozololu a PL128 připravena proti boldenonu. Před zahájením vývoje LFIA byla ověřena jejich funkčnost v systému ELISA.