

## Seznam sekcí a složení komisí

Sekce: **Biotechnologie I**  
**posluchárna C11**

Komise:  
Předseda: Doc. Ing. Jan Masák, CSc.  
Členové: Doc. Ing. Alena Čejková, CSc.  
Ing. Tereza Krulíková  
Dr. Ing. Jana Chumchalová

Sekce: **Biotechnologie II**  
**posluchárna C12**

Komise:  
Předseda: Ing. Pavel Dostálek, CSc.  
Členové: Ing. Jaromír Fiala, Ph.D.  
Ing. Hana Čížková

Sekce: **Biotechnologie III**  
**knihovna ústavu kvasné chemie a bioinženýrství**

Komise:  
Předseda: Prof. Ing. Mojmír Rychtera, CSc.  
Členové: Dr. Ing. Leona Paulová  
Dr. Ing. Petra Patáková

Sekce: **Biochemie**  
**šatna ústavu biochemie a mikrobiologie**

Komise:  
Předseda: Prof. RNDr. Valentová Olga, CSc.  
Členové: RNDr. Zídková Jarmila, CSc.  
Ing. Lipovová Petra, Ph.D.  
Ing. Kontrová Kateřina  
Ing. Šantrůček Jiří

Sekce: **Moderní biochemické a molekulárně biologické metody**  
**posluchárna B22**

Komise:  
Předseda: Prof. Dr. Ing. Macková Martina  
Členové: Doc. Ing. Sajdok Jiří, CSc.  
Dr. Ing. Novotná Zuzana  
Ing. Spiwok Vojtěch, Ph.D.  
Ing. Haubová Šárka

Sekce: **Biochemie  
posluchárna B21**

Komise:  
Předseda: Prof. RNDr. Kodíček Milan, CSc.  
Členové: Prof. Ing. Fukal Ladislav, CSc.  
Ing. Holubová Barbora, Ph.D.  
Ing. Hochel Igor  
Ing. Krinke Ondřej

Sekce: **Mikrobiologie a molekulární biologie  
posluchárna B21**

Komise:  
Předseda: Doc. RNDr. Pazlarová Jarmila, CSc.  
Členové: Doc. Ing. Macek Tomáš, CSc.  
Ing. Knejzlík Zdeněk, Ph.D.  
Ing. Lovecká Petra  
Ing. Nováková Martina

Sekce: **Virologie  
posluchárna B21**

Komise:  
Předseda: Prof. Ing. Ruml Tomáš, CSc.  
Členové: Ing. Kotrba Pavel, Ph.D.  
Ing. Smékalová Zdena  
Ing. Lipov Jan  
Ing. Voráčková Irena

Sekce: **Chemie a technologie sacharidů  
knihovna ústavu chemie a technologie sacharidů**

Komise:  
Předseda: Doc. Ing. Jana Čopíková, CSc.  
Členové: Mgr. Andriy Synytsya, Ph.D.  
Ing. Anežka Veselá

Sekce: **Chemie a analýza potravin I  
posluchárna B02**

Komise:  
Předseda: Prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.  
Členové: Doc. Dr. Ing. Jan Poustka  
Dr. Ing. Jana Holadová  
Ing. Tomáš Čajka

Sekce: **Chemie a analýza potravin II  
posluchárna B03**

Komise:  
Předseda: Doc. Ing. Vladimír Kocourek CSc.  
Členové: Doc. Dr. Ing. Richard Koplík  
Dr. Ing. Věra Schulzová  
Dr. Ing. Karel Cejpek

Sekce: **Technologie zpracování potravin I  
posluchárna B31**

Komise:  
Předseda: Doc. Ing. Miroslav Marek CSc.  
Členové: Ing. Kamila Klauďišová Ph.D.  
Ing. Iveta Fabíková  
Ing. Petra Šotolová

Sekce: **Technologie zpracování potravin II  
knihovna ústavu technologie masa a konzervace potravin, B268**

Komise:  
Předseda: Doc. Ing. František Kvasnička CSc.  
Členové: Ing. Helena Čížková Ph.D.  
Ing. Aleš Rajchl  
Ing. Petra Klodnerová

Sekce: **Technologie zpracování potravin III  
posluchárna B12**

Komise:  
Předseda: Doc. Ing. Jaroslav Dobiáš CSc.  
Členové: Doc. Ing. Ladislav Čurda, CSc.  
Ing. Hana Opatová CSc.  
Dr. Ing. Miroslav Čeřovský  
Dr. Ing. Lenka Votavová  
Ing. Jarmila Jeleníková Ph.D.

Sekce: **Chemie přírodních látek  
posluchárna B09**

Komise:  
Předseda: Doc. Ing. Karel Kefurt, CSc.  
Členové: Ing. Jiří Prokop, CSc.  
RNDr. Miroslav Ledvína, CSc.

**Sekce: Biotechnologie I**

**Utilizace anilinu jako jediného zdroje uhlíku a energie**

Autor: Eva Hofmannová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství  
Školitel: Ing. Jiří Mikeš, Ing. Jitka Hrdinová

Anilin je široce rozšířený polutant životního prostředí. Jde o toxickou a karcinogenní látku, která se dostává do zdrojů vody hlavně díky nedostatečně přečištěné odpadní vodě, např. z výroby barviv a léčiv. Velká pozornost je tedy věnována odstraňováním polutantů ze složek životního prostředí postupy jako je biologická dekontaminace pomocí mikroorganismů, tzv. bioremediace. V této práci byla sledována biodegradační aktivita mikroorganismů - schopnost degradovat anilin, a to u bakteriálních kmenů s pracovním označením A11 (*Ochrobactrum sp.*), A110 (*Comamonas sp.*), *Rhodococcus sp.* a směsné populace AK (aktivovaný kal). Byl sledován růst těchto bakteriálních kmenů v médiích o různých koncentracích anilinu a dále byly zkoumány faktory ovlivňující růst a reprodukci, a to teplota a pH. Množství biomasy bylo stanovováno spektrofotometricky jako optická denzita kultivačního média při vlnové délce 400 nm. Kultivace probíhala na principu batch v Erlenmeyerových baňkách na třepačkách.

**Biotechnologická produkce biomasy obohacené o karotenoidy**

Autor: Jan Král  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství  
Školitel: Ing. Kateřina Zrotalová, Ústav fyzikální biologie Jihočeské univerzity,  
Prof. Ing. Jan Páca CSc.

Kultivace byla prováděna v tubulárních solárních fotobioreaktorech umístěných ve skleníku. Práce byla prováděna s čistou kulturou zelené řasy *Chlorococcum sp.* v autotrofní kultivaci. První část práce byla zaměřena na růst řasy za podmínek pokud možno optimálních pro růst (světelných a nutričních) s cílem získat biomasu. Biomasa z této kultivace byla použita jako inokulum pro dva reaktory v druhé části práce. V druhé části byl sledován vliv dvou druhů stresu na růst a na produkci žádaných karotenoidů. Jednalo se o stres vysokou intenzitou světla a nedostatkem zdroje dusíku. V tomto případě nedostatkem  $NO_3^-$ . V jednom z reaktorů byla kultura pouze v podmínkách nutričního stresu a v druhém reaktoru byla vystavena oběma stresům současně. Předpokládá se, že za podmínek kombinovaného stresu vytváří řasa nejvíce karotenoidů. Podařilo se dosáhnout shodné produkce karotenoidů v obou reaktorech, kde rostla kultura za podmínek stresu.

## Degradace benzínových par v biofiltru

Autor: Pavel Mišák  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství  
Školitel: Prof. Ing. Jan Páca, DrSc.

Biofiltrace je metoda používaná pro čištění odpadních plynů založená na využití mikroorganismů k odstraňování těkavých polutantů nebo zápachových látek. Pro degradaci směsi benzínových a etanolových par (směs benzínu Natural 95 a ethanolu v hmotnostním poměru 1:9) byl použit laboratorní biofiltr o výšce lože 160 cm a vnitřním průměru 5 cm. Biofiltr byl zaočkován pěti čistými kulturami bakterií - *Pseudomonas fluorescens*, *P. putina*, *Rhodococcus* sp., *Methylobacterium* sp., *Stenotrophomonas maltophilia*. Byla sledována startovní fáze biofiltru a degradace směsi podél výšky lože. Výsledky ukázaly snadnou degradovatelnost etanolu, poměrně rychlý náběh degradace aromatických uhlovodíků a taktéž jejich dobrou degradovatelnost. Nejhůře byla degradována alifatická část benzínu z důvodu vysokého obsahu velmi špatně degradovatelných iso- a cyklo-alkanů.

## Stanovenie vlastností bunkového povrchu baktérie *Rhodococcus erythropolis*

Autor: Milena Ouzká  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav kvasnej chémie a bioinžinierstva  
Školiteľ: Ing. Olga Schreiberová

Prítomnosť hydrofóbnej monovrstvy obsahujúcej významný podiel mykolových kyselín spôsobuje atypické vlastnosti obalových vrstiev buniek baktérie *Rhodococcus erythropolis*. Cieľom tejto práce bolo zistenie hydrofobity a permeability bunkových obalov v závislosti na použitom substráte. Hydrofobita buniek bola určená ako percento buniek extrahovaných z vodnej fázy do fázy organickej (metóda BATH). Bolo zistené, že bunkové obaly tejto baktérie sa v prítomnosti glukózy alebo fenolu ako jediného zdroja uhlíka a energie vyznačujú vysokou hydrofobitou – nad 80%, na anilíne je táto hodnota nižšia, dosahuje 30%. Permeabilita bunkových obalov bola zisťovaná ako schopnosť prieniku antibiotík bunkovými obalmi, pričom bol použitý tetracyklín ako modelová hydrofilná a rifampicín ako modelová hydrofóbná látka. Bol zistený rozdiel v prijímaní hydrofilných a hydrofóbných látok v závislosti na použitom zdroji uhlíka a energie.

## Studium vlivu těžkých kovů na kvasinku *Saccharomyces cerevisiae*

Autor: Karolína Vozdecká  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství  
Školitel: Ing. Olga Schreiberová

Byla studována modifikovaná kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* připravená na Ústavu biochemie a mikrobiologie VŠCHT, u níž byly změněny vlastnosti obalových struktur s cílem zvýšit schopnost sorpce těžkých kovů. Na povrch buněk byly zakotveny molekuly glykoproteinu  $\alpha$ -aglutininu, který je zároveň přirozenou součástí buněčné stěny *Saccharomyces cerevisiae*, nesoucí vazebná místa pro těžké kovy.

Pokusy byly prováděny s původním kmenem (bez změněné struktury povrchu) a dvěma modifikovanými kmeny tohoto buněčného biosorbentu. Byl sledován vliv přítomnosti iontů těžkých kovů na růst jednotlivých kmenů za různých podmínek vnějšího prostředí. Dále byl studován vliv kadmiových iontů na vlastnosti obalových vrstev uvedených kmenů. Rovněž byla stanovena hydrofobita obalových vrstev a permeabilita buněk vůči nystatinu.

## Degradace 2,4-DNT čistými kulturami v kapalně fázi

Autor: Martin Vojtíšek  
Ročník: 4.  
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství  
Školitel: Ing. Martin Halecký, Ph.D., Prof. Ing. Jan Páca, DrSc

Byla provedena vsádková kultivace čistých kultur vybraných druhů mikroorganismů izolovaných z několika typů bioreaktorů, ve kterých byly degradovány různé typy polutantů. Vybráni byli zástupci bakteriálních rodů *Commamonas* (*C. testosteroni*) a *Pseudomonas* (*P. putida*, *P. fluorescens*, *P. sp.*), dále čtyři izoláty kvasinek - *Cryptococcus humicolus* a 3 neidentifikované a čtyři izoláty plísní - *Cladosporium* sp. a 3 neidentifikované.

Kultivace probíhala v Erlenmayerových baňkách na třepačkách, v minerálním médiu (BSM) s 2,4-dinitrotoluenem (2,4-DNT) jako jediným zdrojem uhlíku, energie a dusíku.

Cílem studie bylo otestování degradačních schopností vybraných mikroorganismů, vliv přidavku kosubstrátu (etanol) a vliv druhu a původu mikroorganismu na rychlost odbourávání 2,4-DNT. Výsledky prokázaly pozitivní degradační schopnosti u dvou druhů bakterií (*P. putida*, *P. fluorescens*) a jedné kvasinky (neidentifikována).

## Proteolytická aktivita NSLAB izolovaných ze sýrů

Autor: Jiří Cicvárek  
Ročník: 4.  
Ústav: Ústav technologie mléka a tuků  
Školitel: ing. Štěpán Tůma

V sýrech se kromě cíleně přidávaných bakterií mléčného kvašení vyskytují i bakterie mléčného kvašení nezákysového původu (NSLAB). Jejich zdrojem je syrové mléko, ovzduší,

povrch strojů nebo solná lázeň. Nejčastějšími zástupci vyskytujících se v sýrech jsou fakultativně heterofermentativní laktobacily.

NSLAB mohou svou proteolytickou aktivitou pozitivně i negativně ovlivnit chuť, vůni i texturu sýru především produkcí volných aminokyselin. NSLAB disponují proteasami, štěpící kasein na peptidy, a peptidasami (endopeptidasy, aminopeptidasy, di- a tripeptidasy) které štěpí peptidy na kratší peptidy nebo až na volné aminokyseliny (Cys, Met, ...). Na vývoji chuti se často podílely pozitivně *Lb. paracasei* a negativně *Lb. plantarum*.

Cílem této práce bylo sledovat proteolytickou aktivitu vybraných kmenů NSLAB v mléce a porovnat je s komerčně využívanými kmeny laktobacilů. Proteolytická aktivita byla stanovena pomocí OPA metody. Nejnižší proteolytickou aktivitu měl kmen *Lb. fermentum* ST306, nejvyšší kmen *Lb. plantarum* DC1246. V porovnání s komerčně používanými kmeny *Lb. helveticus* 121, *Lb. delbrueckii* ssp. *lactis* 125 a *Lb. casei* 163 byla proteolytická aktivita ostatních sledovaných kmenů nižší.

## Antiklostridiální aktivita NSLAB izolovaných z polotvrdých sýrů

Autor: Hana Kaňková  
Ročník: 4.  
Ústav: Ústav technologie mléka a tuků  
Školitel: ing. Štěpán Tůma

Výskyt klostridií v sýrech způsobuje problémy při jejich výrobě. Produkci plynů způsobují klostridie tzv. pozdní duření sýrů, které se projevuje tvorbou prasklin a vydutí v sýru. Dochází tak k znehodnocení a porušení textury sýru.

Ke snížení počtu klostridií při výrobě sýrů se využívá baktofugace, mikrofiltrace, přidavek nisinu, lysozymu nebo dusičnanu draselného. Další možností je využití bakterií mléčného kvašení s antimikrobiálními vlastnostmi. V současnosti je snaha využít nezákysových bakterií mléčného kvašení (NSLAB) přirozeně se vyskytujících v sýrech, k potlačení výskytu klostridií v sýru. U některých kmenů NSLAB byla již v minulosti prokázána jejich antiklostridiální aktivita. Cílem této práce bylo otestovat antiklostridiální aktivitu NSLAB izolovaných z polotvrdých sýrů. Agarovou otvůrkovou difúzní metodou se testovala aktivita živých buněk a supernatantů šesti kmenů *Lb. paracasei*. Kmeny *Lb. paracasei* 7R1 a *Lb. paracasei* 171R2 inhibovaly oproti ostatním testovaným kmenům všechny vybrané kmeny klostridií (*Cl. tyrobutyricum*, *Cl. sporogenes*, *Cl. butyricum*).

---

**Sekce: Biotechnologie II**

**Metody předpovědi koloidní stability piva**

Autor: Lucie Janková  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav kvasné chemie a bionženýrství  
Školitel: Ing. Pavel Dostálek, CSc., RNDr. Miroslav Dienstbier

Koloidní stabilita je důležitý ukazatel kvality piva. Závisí na složení vstupních surovin, použitém stabilizačním prostředku, podmínkách transportu a době a teplotě skladování. Narušení koloidního systému se projeví vznikem zákalu.

Cílem práce bylo zjistit, zda existuje korelace mezi přirozenou trvanlivostí piva garantovanou výrobcem a koloidním stavem piva po stočení. Pro zjištění tohoto stavu byly použity fyzikálně-chemické testy: srážení síranem amonným, stanovení tanoidů dle Chapona, stanovení citlivých proteinů srážením taninem, alkoholový chladový zákal a stanovení oxidovatelných polyfenolů. Výsledkem měření přirozené trvanlivosti je křivka stárnutí jednotlivých vzorků. Měření byla prováděna na zákaloměru v nefelometrickém uspořádání pod dvěma úhly (90° a 11°).

Měření ukazují, že pomocí fyzikálně-chemických testů lze trvanlivost piva předpovědět. Proto by mohly nahradit současně používané tepelné šokování, které je časově poměrně náročné.

**Stanovení volných aminokyselin v pivech**

Autor: Ivana Kabelová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství  
Školitel: Ing. Hana Čížková, Ing. Pavel Dostálek, CSc.

V práci je shrnut význam aminokyselin v pivovarství. Obsah aminokyselin je důležitý pro pomnožení kvasinek během kvašení. Zdůrazněna je účast aminokyselin v reakcích vedoucích k tvorbě senzorycky nežádoucích sloučenin, ovlivňující organoleptické vlastnosti piva.

Analýzu obsahu aminokyselin je možné uskutečnit jako skupinové stanovení pomocí metody formolové titrace, ninhidrinové a reakce s TNBS. Jednotlivé volné aminokyseliny je možné stanovit pomocí PC, TLC, HPLC, IEC, GC, GPC, HIC, CZE. Pro stanovení aminokyselin v této práci byla použita metoda HPLC s využitím předkolumnové deprivatizace pomocí AccQ•Tag činidla a následného stanovení těchto derivátů po jejich separaci na reverzní fázi pomocí fluorescenční detekce. Cílem práce bylo srovnání obsahu aminokyselin v různých druzích piv. Analyzovala se piva česká, zahraniční i česká využívající zahraniční technologii.



## Stanovení iso- $\alpha$ -kyselin v pivu

Autor: Radim Kruliš  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství  
Školitel: Ing. Marcel Karabín, Ing. Pavel Dostálek, Csc

Na charakteristickou hořkou chuť piva má největší vliv množství iso- $\alpha$ -kyselin. V případě použití tradičního chmelení hlávkami nebo granulemi se tyto látky do piva dostávají během chmelovaru, kdy dochází k isomerizaci  $\alpha$ -kyselin obsažených v chmelových pryskyřicích. V současnosti se stále více používají chmelové extrakty obsahující také redukované formy iso- $\alpha$ -kyselin, vytvořené hydrogenací postranních isopentenylových řetězců. Hydrogenované iso- $\alpha$ -kyseliny se vyznačují vyšší sensorickou hořkostí, fotostabilitou a mají stejně jako iso- $\alpha$ -kyseliny pozitivní vliv na stabilitu pивní pěny. Jejich nevýhodou je horší sensorická kvalita hořkosti. Chmelení extrakty probíhá za studena.

Optimální metoda pro stanovení iso- $\alpha$ -kyselin je HPLC metoda s UV detekcí, jejíž největší výhodou je možnost rozdělení jednotlivých iso- $\alpha$ -kyselin podle stupně hydrogenace a zároveň schopnost rozlišit *cis*- a *trans*- isomery. U této metody se používá alkalická mobilní fáze, nástřiku vzorku předchází izolační krok, kdy se látky z piva oddělí a zakoncentrují pomocí SPE (extrakce na tuhé fázi) na reverzní fázi.

Cílem této práce byla optimalizace izolačních kroků, separace jednotlivých isomerů a kvantifikace obsahu jednotlivých isomerů iso- $\alpha$ -kyselin ve vzorcích piva.

## Antioxidační kapacita sladů

Autor: Ing. Zuzana Skulilová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství  
Školitel: Ing. Markéta Dvořáková, Ing. Pavel Dostálek, CSc.

Slady se vyznačují značnou antioxidační kapacitou. Antioxidační kapacita je schopnost sloučeniny bránit, zpomalovat nebo předcházet oxidačním procesům, případně snižovat nežádoucí jevy způsobené oxidací. Hlavním nositelem antioxidační kapacity jsou produkty vznikající za tepla, tj. melanoidy a různé meziprodukty Maillardových reakcí. V pivovarských materiálech jsou hlavním nositelem antioxidačních vlastností polyfenoly. Polyfenoly jsou přirozené antioxidanty přítomné v rostlinách, mají příznivý vliv na lidské zdraví svými protizánětlivými, antikarcinogenními a antimikrobiálními účinky. Dále se podílejí na chem-fyzikální stabilitě piva, na formování pěny a na odolnosti piva proti stárnutí a oxidaci.

Cílem práce bylo stanovení antioxidační kapacity u vodných výluhů sladů a porovnání výsledků použitých metod. Pro měření antioxidační kapacity byla použita metoda FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) a metoda ABTS (2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid). Dále byl u sladových výluhů stanoven obsah celkových polyfenolů metodou Folin-Ciocalteu. Pro srovnání bylo použito 17 různých druhů sladů.

## Využití průtokové cytometrie pro kontrolu násadních kvasnic a průběhu hlavního kvašení

Autor: Martin Slabý  
Ročník: 5.  
Ústav: ÚKCHB  
Školitel: Ing. Jaromír Fiala, Ph.D.

V příspěvku jsou shrnuty metodiky využívající průtokové cytometrie k určení zastoupení některých intracelulárních složek a buněčného cyklu *Saccharomyces cerevisiae*. Byly použity kmeny ze sbírky VÚPS při poloprovozních kvasných zkouškách.

Při různých podmínkách hlavního kvašení v CKT (teplota, tlak a intenzita provzdušnění mladiny), byl vliv těchto stresových faktorů porovnán s ohledem na tvorbu intracelulárních komponent.

Dále byly porovnány různé metody uchovávání kvasničných kmenů a testována jejich technologická stabilita uvedenou fluorescenční metodou.

## Výpočet interakčních energií buňka-buňka a buňka-nosič pro různé kmeny pivovarských kvasinek

Autor: Bohumil Valenta  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství  
Školitel: Ing. Tomáš Brányik, Ph.D.

Jedna z technologicky významných vlastností buněčné stěny pivovarských kvasinek, je její schopnost adherovat k jiným buňkám resp. povrchům. Podstatný vliv na buněčnou adhezi a flokulaci mají fyzikálně-chemické vlastnosti, jako je hydrofobicita a povrchový náboj buněčného povrchu.

Klasická DLVO teorie umožňuje přibližný výpočet interakčních energií dvou přibližujících se a vzájemně na sebe působících povrchů. Zahrnuje působení nescifických fyzikálně-chemických sil, jako jsou disperzní a elektrostatické interakce. Vstupními hodnotami pro výpočet interakčních energií jsou povrchový náboj, průměr kvasinek a iontová síla prostředí. Ke zjištění průměru kvasinek byla použita obrazová analýza a program LUCIA (Laboratory Imaging s.r.o., CZ), zatímco povrchový náboj kvasinek byl stanoven pomocí Zetasizer Nano-ZS (Particle Sizer, Malvern, UK).

Nicméně, DLVO teorie počítá pouze se silami dalekého dosahu a proto neumožňuje předpovědět hodnoty potenciální energie v místě kontaktu. Proto se pro posouzení, zda fyzikálně-chemické vlastnosti povrchu povedou k stabilní adhezi či nikoliv používá také teorie založená na rovnováze mezifázových volných energií. Ty obvykle nejsou známy, ale jejich rozdíl (adhezní napětí) je možno vyjádřit z Youngovy rovnice pomocí měřitelných veličin, povrchového napětí a z hodnot kontaktních úhlů různých kapalin na povrchu buněčného filmu (Contact Angle Measurement Apparatus, Dataphysics, OCA 20, Germany). Pro porovnání vypočítaných hodnot bylo použito pět kmenů pivovarských kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*.

## Metoda ATP bioluminescence pro kontrolu mikrobiologické kontaminace v pivo

Autor: Michala Zavadilová  
Ročník: 5.  
Ústav: ÚKCHB  
Školitel: Ing. Jaromír Fiala, Ph.D.

Rychlé metody pro zjištění mikrobiologické kontaminace jsou nezbytné pro zavedení systému HACCP ve všech potravinářských závodech. Dále je velice důležitá, zejména pro pivo, kontrola přímo v restauračních zařízeních. Aby se pivo dostalo k zákazníkovi v požadované kvalitě, je nutné dbát na podmínky skladování a čepování. Pro udržení vysoké kvality piva od výrobce až po spotřebitele je důležitá sanitace a hygiena pivních cest.

V této práci je metoda ATP bioluminescence, která je založena na principu světélkující luciferasy, použita pro rychlou detekci stupně kontaminace hotového piva. ATP je měřena příručními luminometry – luminometrem Uni – Lite NG a Hygiene International Pi – 102.

Hotové pivo bylo úmyslně kontaminováno rody *Lactobacillus* a *Pediococcus*. Takto upravená piva byla porovnávána se sterilními pivy téhož druhu.

Tato metoda má velký význam v určení kontaminace piva a pivních cest.

## Stanovení obsahu glykogenu v kvasinkách

Autor: Michael Bražina  
Ročník: 3.  
Ústav: ÚKCHB  
Školitel: Ing. Jaromír Fiala, Ph.D.

Glykogen slouží kvasinkám jako hlavní zásobní látka. Jeho obsah těsně souvisí s rychlostí kvašení, viabilitou a vitalitou kvasinek. U kvasinek s nízkým obsahem glykogenu se kvašení rozbíhá pomaleji a trvá déle, což je ekonomicky nevýhodné.

Obsah glykogenu v kvasinkách můžeme stanovit několika metodami. Princip první metody spočívá v extrakci alkalickým a následně kyselým činidlem. Získáme dvě frakce, ve kterých je pomocí anthronového činidla nebo specifických enzymů stanoven obsah hexos.

Další metoda je založena na barvení glykogenu vodným roztokem trijodidu. Intenzita vzniklého zabarvení, měřená jako absorbance při 660 nm, je úměrná koncentraci glykogenu. Třetí metoda spočívá v měření absorpce blízkého infračerveného záření kvasinkami a její porovnání se známými absorbancemi.

Nejnovější metoda je založena na barvení fixovaných kvasinek fluorescenčním barvivem akriflavinem, jenž se kovalentně váže na glykogen. Intenzitu fluorescence, která koreluje s obsahem glykogenu v buňce, měříme průtokovou cytometrií.

## Acidifikační test v pivovarství

Autor: Tomáš Bryzgal  
Ročník: 3.  
Ústav: ÚKCHB  
Školitel: Ing. Jaromír Fiala, Ph.D.

Tato práce je zaměřena na možnosti využití acidifikačního testu, historii jeho vzniku a tvůrce. Dále zahrnuje princip metody, která je založena na znalosti řady membránových pochodů probíhajících v kvasinkách. Hlavním pochodem, který se podílí na acidifikační schopnosti kvasinek je činnost  $H^+$ -ATPasy.

Acidifikační test se v laboratorních podmínkách prováděl s kmeny kvasnic, které pocházely převážně přímo z provozu. Díky acidifikačnímu testu lze pozorovat, jak různé nepříznivé vlivy (stresy), kterým jsou kvasinky při výrobě piva vystaveny, působí na jejich životaschopnost a vitalitu.

Může se jednat např. o teplotní vlivy, vliv hořkých chmelových látek, vysoký hydrostatický tlak v CKT apod. Největší vliv na posuzovanou aktivitu má však staří testované kultury kvasnic a počet várek na které byla nasazena.

Podle intenzity nepříznivých vlivů, kterým je testovaná kultura kvasnic vystavena, se mění i průběh naměřených hodnot pH v závislosti na čase. Kvasnice z různých provozů a různého staří mají různý průběh křivky závislosti.

Pro lepší ilustraci je v práci uveden bodový postup práce při testu a aparatura, která je pro sledování aktivity v našich školních podmínkách používána.

V závěru práce jsou uvedeny výsledky měření s kulturami kvasnic z různých pivovarských provozů a jejich význam pro charakteristiku testované kultury.

**Sekce: Biotechnologie III**

**Sledování vlivu kultivačních podmínek na fyziologický stav  
geneticky upravené kvasinky *Pichia pastoris***

Autor: Michaela Báňarová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství  
Školitel: Dr. Ing. Leona Paulová, Ing. Barbora Branská

Cílem této práce je studium možností využití moderních optických metod (zejména průtokové cytometrie a fluorescenční mikroskopie) pro sledování fyziologického stavu rekombinantní kvasinky *Pichia pastoris* s fenotypem Mut<sup>+</sup> (metanol využívající fenotyp). Fyziologické charakteristiky kvasinek byly sledovány jednak u vzorků kultivovaných v laboratorním bioreaktoru a jednak u vzorků kultivovaných v třepaných baňkách s přidavkem různých stresových faktorů. Jako ukazatel fyziologického stavu byla zvolena viabilita (životaschopnost) buněk a vitalita, která je v této práci chápána jako aktivita nebo metabolický výkon mikroorganismu. Při měření byla použita fluorescenční barviva pro sledování membránové integrity, membránového potenciálu a esterásové aktivity.

**Využití genetických metod k identifikaci mikroorganismů**

Autor: Laurencie Krobová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství  
Školitel: Doc. Ing. Karel Melzoch Csc. , Ing. Lucie Piterková

Rychlá a účinná identifikace mikroorganismů je nezbytnou nutností pro mnohé laboratoře, které se zabývají biotechnologiemi zejména pak biologií na molekulární úrovni. V dnešní době existuje řada metod, které požadavky rychlosti a účinnosti splňují, ne všechny je však, v závislosti na podmínkách, možno aplikovat. Na základě informací v dostupné literatuře byly vybrány pro první screening následující dvě metody - RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) a amplifikace genu pro 16S rRNA pomocí PCR. Pro práci byly vybrány dva mezofilní druhy bakterií (*Bacillus subtilis* a *Bacillus cereus*) a jeden zástupce termofilních bakterií (*Geobacillus stearothermophilus*). Izolace DNA byla provedena pomocí komerčního kitu od firmy QIAGEN. Pro obě metody bylo nutné provést optimalizaci podmínek (koncentrace primerů, koncentrace MgCl<sub>2</sub>, annealingové teploty a teplotního profilu). Byla ověřována podobnost výsledků měření pro stejné kmeny pocházející ze sbírek Ústavu kvasné chemie a bioinženýrství a Ústavu biochemie a mikrobiologie. Vizualizace výsledků byla prováděna na agarosovém gelu obarveném ethidiumbromidem.

Metoda RAPD, i přesto že je v odborné literatuře často publikovaná, se nepodařila i po dlouhodobé optimalizaci žádným možným způsobem aplikovat. Metoda amplifikace genu pro 16S rRNA byla úspěšně zoptimalizovaná pro jeden set primerů.

## Kultivace aerobních termofilních mikroorganismů v membránovém bioreaktoru

Autor: Jakub Lipovský  
Ročník: 5.  
Ústav: Kvasná chemie a bioinženýrství  
Školitel: Prof. Ing. Mojmír Rychtera CSc.

V dnešní době je kladen důraz na šetrnost technologií k životnímu prostředí a proto jsou hledány způsoby neutralizace nebezpečných odpadů, či jejich využití jako výchozích surovin pro další procesy. Při zpracování odpadů se jedná především o maximální snížení obsahu organických látek (vyjádřených jako chemická spotřeba kyslíku), dusíkatých látek a fosforu. Využívání termofilních mikroorganismů v průmyslových procesech v posledních letech značně vzrůstá. Odpadní vody potravinářského průmyslu mohou sloužit jako surovina pro produkci energie. Je popsáno několik technik, které se zabývají tímto problémem. Metody využití odpadních vod jsou fyzikální, chemické a biologické. Aerobní termofilní ošetření odpadních vod může vykazovat vysoké hodnoty odbourávání CHSK až 80%. Termofilní čištění odpadních vod však může přinést jiné výhody jak ekonomické, tak energetické, v porovnání s tradičními způsoby úpravy odpadních vod. Cílem stávajícího výzkumu je optimalizace užití termofilních bakterií zvyšováním jejich koncentrace v prostředí reaktoru. To lze dosáhnout propojením mikrofiltrační keramické jednotky s fermentorem, což zvyšuje degradační rychlost (Moravec a kol. 2006). V naší práci jsme použili směsnou aerobní termofilní kulturu z čistírny v Bystřici pod Hostýnem a jako médium bylo zvoleno polysyntetické médium obsahující glycerol jako uhlíkatý zdroj.

## Izolácia a stanovenie karoténoidov kvasiniek *Rhodotorula mucilaginosa* a *Rhodotorula glutinis*

Autor: Miroslav Lukčo  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství  
Školitel: Dr.ing. Petra Patáková, Ing. Tereza Krulikovská

Cieľom tejto práce bolo nájsť vhodnú metódu izolácie karoténoidných pigmentov z buniek *Rhodotorula mucilaginosa* a *Rhodotorula glutinis*. Keďže sú karotény intracelulárnymi produktami, bolo najdôležitejšou úlohou nájsť vhodnú metódu dezintegrácie buniek a následná extrakcia karoténov. Pri dezintegrácii buniek boli využité hlavne vplyvy nízkej teploty (zamrazenie na  $-70^{\circ}\text{C}$ , použitie tekutého dusíku), mechanických síl, DMSO a iných organických zlúčenín. Účelom práce bolo taktiež využitie znalosti metódy dezintegrácie daných buniek pri nasledovnom stanovení týchto pigmentov a sledovaní ich produkcie v závislosti na dobe kultivácie pomocou spektrofotometrie a HPLC.

## Optimalizace kultivačních podmínek pro produkci proteinů pomocí geneticky upravené kvasinky *Pichia pastoris*

Autor: Michal Norek  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství  
Školitel: Dr. Ing. Leona Paulová, Ing. Stanislava Trulayová

Předmětem této práce bylo studium vlivu kultivačních podmínek na kinetiku růstu rekombinantní methylotrofní kvasinky *Pichia pastoris* a na kinetiku tvorby produktu v laboratorním bioreaktoru při kontinuální kultivaci v uspořádání chemostatu. Byl použit kmen Mut+ (metanol využívající fenotyp) kvasinky *Pichia pastoris* pPICZ $\alpha$ A-pTryp#3, který obsahuje AOX promotor a po indukci metanolem produkuje extracelulární trypsinogen. Kultivace byly prováděny na směsném substrátu obsahujícím jako zdroj uhlíku a energie glukosu a metanol v různých poměrech. Během experimentů byl sledován vliv zředovací rychlosti, složení substrátu (poměr glukosy a metanolu) a pH na kinetiku tvorby produktu.

## Hodnocení fyziologického stavu mikrobiálních populací metodou průtokové cytometrie

Autor: Martina Novotná  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství  
Školitel: Dr. Ing. Petra Patáková, Ing. Barbora Branská

Úkolem této práce je optimalizace metodik sledování fyziologického stavu kvasinek na průtokovém cytometru Cell lab quanta S.C zapůjčeného na ÚKCHB firmou Beckman Coulter. Jedná se jednak o implementaci stávajících fluorescenčních metodik zavedených pro cytometr Partec, kde je detekce částic založena na kvantifikaci rozptylu světla, pro systém pracující na základě tzv. Coulterova principu, tedy měření změny elektrické impedance. A dále o vymezení aplikačního rozsahu pro daný cytometr z hlediska velikosti a heterogenity analyzovaných částic, reakčního pufru, nosného média a dalších.

## Využití mléčných bakterií v potravinářském průmyslu

Autor: Kristýna Veselá  
Ročník: 5.  
Ústav: Kvasná chemie a bioinženýrství  
Školitel: Hervé Prévost

Mléčné bakterie se v dnešní době hojně využívají v potravinářském průmyslu. Jedním z těchto využití je také biokonzervace. V moderní době, kdy se ve vyspělých státech rozvíjí trend konzumovat biopotraviny, které nejsou tepelně ani chemicky ošetřené, si biokonzervace našla své místo. Jedná se o techniku použití mléčných bakterií nebo substancí jimi vyprodukovaných k prodloužení doby trvanlivosti potravin. Mléčné bakterie jsou často přirozeně obsaženy v surovinách, proto se jejich aplikace považuje za přirozenou. Snahou je, rozšířit použití této techniky i do nefermentovaných chlazených potravin, jako je například maso nebo ryby. Výhodou těchto bakterií je, že se v prostředí vakua nebo

atmosféry s obsahem CO<sub>2</sub>, která se běžně používá k uchování masa a ryb, rychle množí a stávají se tak brzy dominantní kulturou. Proti patogenům bojují svým soutěživým růstem, snížením pH prostředí a tvorbou bakteriocinů. Mléčné bakterie však mají vliv i na organoleptické vlastnosti potravin, proto se nadále hledají způsoby aplikace a podmínky procesů, aby tyto změny neměly vliv na jakost finálního výrobku. V této práci, která byla prováděna na ENITIAA v Nantes ve Francii, byla jako vstupní surovina použito hovězí carpaccio. Po zaočkování mléčnými bakteriemi připravených z lyofilizátu, bylo uchováno v ochranné atmosféře (70%O<sub>2</sub>; 30%CO<sub>2</sub>), při 4°C, po dobu 23 dnů. Během této doby byla v časových intervalech 3-4 dnů prováděna mikrobiologická analýza, senzorická analýza, analýza barvy a stanovení pH. Z výsledků můžeme usuzovat, že mléčné bakterie mají inhibiční vlastnosti na růst patogenů. Projevil se však negativní vliv na změnu organoleptických vlastností masa.

## Rychlá kontrolní metoda mikrobiologie piva

Autor: Jan Petříček  
Ročník: 3.  
Ústav: ÚKCHB  
Školitel: Ing. Jaromír Fiala, Ph.D.

V práci byla použita rychlá metoda ATP bioluminescence. Metoda je založena na kvantitativním měření ATP bioluminescence s komplexem luciferasa-luciferin, který vstupuje do styku s molekulou ATP (adenosin triphosphate), která je přítomna ve veškeré biomase, skládající se z živočišné, rostlinné a mikrobiální hmoty.

Luciferin reaguje s kyslíkem prostřednictvím enzymu luciferasa, který hraje roli katalyzátoru chemické reakce. Tím vznikne oxyluciferin ve stavu energeticky excitovaném a celá reakce je doprovázena vyzařováním světla.

V této práci je pomocí této metody stanoven poměr množství ATP, kterou obsahují mikroorganismy a množství produktové ATP. Pro práci byly zvoleny provozní kmeny *Saccharomyces cerevisiae* a nejběžnější zástupci rodů pivovarské kontaminace *Lactobacillus* a *Pediococcus*. V experimentech byl použit příruční luminometr HY-LiTE 2.



**Sekce: Biochemie**

## Dysfibrinogenémie

Autor: Zuzana Reicheltová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, ÚHKT  
Školitel: Prof. Jan E. Dyr, DrSc.

Zástava krvácení při poranění je životně důležitý fyziologický děj. Fibrinogen je glykoprotein krevní plazmy a je jedním z nejdůležitějších faktorů účastnících se krevního srážení. Jeho správná funkce je pro tento proces nesmírně důležitá. Poruchy v molekule fibrinogenu mohou vést k různě závažným formám onemocnění nazývaného dysfibrinogenémie. Tato choroba může být i příčinou ohrožení života v důsledku vykrvácení či naopak silné trombózy. Vrozené dysfibrinogenémie jsou způsobeny mutacemi v některém z genů, které kódují jednotlivé řetězce fibrinogenu. Tyto mutace pozmění strukturu molekuly fibrinogenu a mohou vyvolat změny ve funkčnosti. Získané dysfibrinogenémie bývají druhotným onemocněním vyvolaným primárním onemocněním (nejčastěji v souvislosti s chorobami jater či mnohočetným myelomem) nebo užíváním léků.

## Vliv nízkomolekulárních thiolů na aktivaci krevních destiček

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

Pro funkci krevních destiček jsou reakce, kterých se účastní thioly a disulfidy, velmi důležité, protože jsou součástí procesu adheze, agregace a sekrece krevních destiček. Mezi nízkomolekulárními thioly ovlivňující tyto reakce je nejvýznamnější glutathion, který se v krvi nachází v koncentraci stimulující aktivaci destiček. Zvláštní pozornosti se v současné době těší stimulační efekt homocysteinu, jehož zvýšená koncentrace představuje rizikový faktor cévních onemocnění.

V této práci byly lidské krevní destičky inkubovány ve dvou koncentracích glutathionu a homocysteinu a následně byla měřena jejich agregační odpověď po indukci kolagenem nebo trombinem. Oba thioly ve vysokých koncentracích (4 mmol/l a 2 mmol/l respektive) inhibovaly aktivaci indukovanou kolagenem nebo trombinem. Homocystein v koncentraci 20  $\mu\text{mol/l}$  a glutathion 10  $\mu\text{mol/l}$  aktivaci stimulovaly. Byla vypracována metoda pro stanovení glutathionu, homocysteinu, cysteinyl-glycinu a cysteinu pomocí HPLC s fluorescenční detekcí a experimentálně byly potvrzeny změny v redoxním stavu thiolů během inkubace s destičkami.

## Sledování mechanismu vlivu desmopresinu na změny hemostázy u pacientů s von Willebrandovou chorobou

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

Hemostáza je schopnost organismu zastavit krvácení současně se schopností udržet tekutost krve v neporušeném cévním řečišti. Von Willebrandova choroba (vWCH) patří mezi krvácivá onemocnění a její příčinou je nedostatek nebo defekt von Willebrandova faktoru (vWF) a zároveň často i nedostatek koagulačního faktoru VIII (FVIII), který se na vWF váže. Tím se významně podílí na koagulaci.

Desmopresin, chemický analog antidiuretického hormonu, způsobuje zvýšení hladin těchto faktorů a příznivě ovlivňuje toto onemocnění. Znalosti mechanismu a rozsahu účinku jsou omezené. Naším cílem bylo zjistit, zda je změna hemostázy vázaná pouze na zvýšení hladiny FVIII nebo existují další mechanismy ovlivňující generaci trombinu.

V plazmě pacientů s vWCH po podání desmopresinu (DDAVP) jsme měřili v časových intervalech FVIII, vWF, tkáňový faktor (TF) a metodou TGA (generační čas trombinu) změny v množství trombinu. Změny hemostázy v celé krvi jsme sledovali pomocí trombelastografie. U většiny pacientů se hladina trombinu zvýšila po dvou hodinách od podání DDAVP a postupně klesala, což odpovídalo zvýšení hladiny FVIII. Také se ve většině případů měnila hladina TF, která ale rostla později. To ukázalo na další mechanismus působení DDAVP, který budeme dále prověřovat v *in vitro* systému krevních buněk.

Ověřili jsme, že desmopresin má příznivý vliv na koagulaci, otázkou ale zůstává jaký je podíl přímého a nepřímého působení.

## Iniciace translace u prasečích oocytů - studium interakcí proteinů na 3' a 5' koncích mRNA

Autor: Pavla Karabínová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR  
Školitel: Doc. Ing. Jiří Sajdok, CSc.

Po vyjmutí z folikulu dojde u oocytu k zahájení meiotického zrání. V této fázi je přerušena transkripce, a tak veškerá regulace genové exprese probíhá výhradně na úrovni translace. Zásadní roli v tomto procesu hraje iniciace translace, na níž se podílí řada proteinů, jejich fosforylace, defosforylace, interakce s mRNA i vzájemné proteinové interakce.

Zaměřili jsme se na proteiny vázající poly(A) konec mRNA (3' konec mRNA), zejména poly(A)-vázací protein (PABP) a jeho interakci s iniciačními faktory na 5' konci mRNA a s proteiny regulujícími tyto interakce - PABP-interagujícími proteiny (Paip1, Paip2).

Objektem našeho výzkumu jsou prasečí oocyty. Ty jsou izolovány z ovárií, která jsou získávána na jatkách a transportována do laboratoře ve fyziologickém roztoku při 38°C. Oocyty jsou po vyjmutí z folikulu kultivovány. Doba kultivace je závislá na požadovaném stadiu zrání. Oocyty jsou poté zbaveny kumulárních buněk a takto připravené vzorky jsou používány dále pro detekci proteinů. PABP a Paip jsme po rozdělení SDS-PAGE zjišťovali metodou Western blotting s následnou imunodetekcí na PVDF membráně. Po nalezení vhodných podmínek pro imunoblotting jsme porovnali expresi těchto proteinů v jednotlivých fázích zrání oocytů (GV, MI, MII). Dalším cílem naší práce je prokázání vazby PABP na

iniciační faktory za použití m<sup>7</sup>-GTP Sepharosy, která napodobuje čepičkovou strukturu mRNA.

## Regulace transkripce genů zapojených do metabolismu chlorkatecholů u *Achromobacter xylosoxidans* A8

Autor: Jana Dubská  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie  
Školitel: Prof. RNDr. Václav Pačes, DrSc.

Chlorbenzoáty (CB) patří mezi běžně se vyskytující polutanty životního prostředí. *Achromobacter xylosoxidans* A8 je schopný využít chlorbenzoáty a převádět je na chlorkatecholy. Ty jsou dále transformovány modifikovanou *ortho*-metabolickou dráhou (mocp) na meziproducty citrátového cyklu. Regulace exprese genů modifikované *ortho*-metabolické dráhy probíhá prostřednictvím transkripčního faktoru MocpR.

Úspěšně jsme exprimovali gen *mocpR* v *E. coli*. Po izolaci a purifikaci proteinu MocpR pomocí ionexové a afinitní chromatografie jsme se zabývali studiem jeho vazebných vlastností na DNA prostřednictvím metody electrofretic mobility shift assay (EMSA) a Footprintingu s exonukleasou III. Upřesnili jsme místo vazby proteinu do oblasti promotoru genu kodujícího první enzym *mocp* dráhy (MocpA) na úsek 100 bp. Dále jsme zkoumali vliv induktoru *cis,cis* - mukonátu na komplex MocpR - DNA. Zjistili jsme, že způsobuje rozpad tohoto komplexu, což znamená, že MocpR se chová jako represor *mocp* dráhy.

## Produkce, izolace a charakterizace $\beta$ -N-acetylhexosaminidasy z *Talaromyces flavus*

Autor: Kristýna Slámová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, Laboratoř biotransformací, MBÚ AV ČR  
Školitel: Prof. Dr. Ing. Martina Macková

(EC 3.2.1.52) z *Talaromyces flavus* CCF 2686 byla identifikována jako enzym se širokou substrátovou specifikou, která umožňuje syntézu modifikovaných oligosacharidů. V tomto projektu jsme se zaměřili na produkci, purifikaci a charakterizaci  $\beta$ -N-acetylhexosaminidasy, kdy nejdříve byly upraveny podmínky pro submersní kultivaci producenta s cílem zvýšit specifickou aktivitu enzymu v mediu. Úpravou složení a pH media a změnou induktoru se zvýšila specifická aktivita 5x oproti původnímu způsobu produkce. Byly stanoveny základní vlastnosti hrubého enzymového preparátu: teplotní optimum 65°C, dvě pH optima (2;5), která naznačují přítomnost isoenzymů, dobrá stabilita v rozmezí pH 3 - 7 při 35°C. Enzym byl purifikován do elektroforetické čistoty; jedná se pravděpodobně o heterodimer s molekulovou hmotností 160 kDa. Purifikace se skládá ze tří hlavních kroků. Po srážení kultivačního media síranem amonným do 80% saturace následuje ionexová chromatografie na fractogelu, a nakonec se enzym dočistí gelovou filtrací na Superdexu 200. Purifikovaný enzym bude dále charakterizován (pH a teplotní optima a stabilita, kinetické parametry, inhibice), bude testována jeho substrátová specifita vůči modifikovaným substrátům a budou hledány možnosti jeho využití pro syntézu modifikovaných oligosacharidů.

## Identifikace a charakteristika desaturasy ze samců čmeláka hájového (*Bombus lucorum*)

Autor: Jana Matoušková  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, UOCHB AV ČR  
Školitel: Prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.

Acyl-CoA desaturasy hrají nepostradatelnou roli v metabolismu mastných kyselin a při regulaci tekutosti buněčné membrány. U hmyzu se desaturasy podílejí na specifické úpravě feromonů, které jsou klíčové pro vzájemnou komunikaci hmyzu. Cílem této práce je zjistit, jakým způsobem probíhá desaturace u čmeláků a kde jsou desaturasy lokalizovány. Pro studium bude použita labiální žláza a tuková tělesa ze čmeláka hájového (*Bombus lucorum*). Nejprve byla izolována celková RNA z labiální žlázy a pomocí RT-PCR a degenerovaných primerů, navržených na základě známé sekvence  $\Delta 9$  desaturasy z motýla *Manduca sexta*, byl získán střední fragment genu kódujícího desaturasu. 3' i 5' konce byly nasyntetizovány metodou 3'RACE a 5'RACE. Sekvenování potvrdilo, že získaný gen kóduje  $\Delta 9$  desaturasu o velikosti cca 1200pb. Otevřený čtecí rámec, kódující 351 aminokyselin, byl dále klonován do TOPO vektoru pro expresi čmeláčí desaturasy v kvasinkách *Saccharomyces cerevisiae* nesoucích ole1 mutaci, které mají chybnou syntézu nenasycených mastných kyselin (UFA) a potřebují UFA pro svůj růst. Exprese  $\Delta 9$  desaturasy je v současnosti ověřována.

**Sekce: Moderní biochemické a molekulárně biologické metody**

**Studium multimerizace strukturních proteinů Mason-Pfizerova opičích viru**

Autor: Karolína Böhmová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, UOCHB AV ČR  
Školitel: Prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc

Mason-Pfizer opičí virus, jako zástupce D-typu retrovirů, skládá své částice uvnitř cytoplasmy, a proto je vhodným modelem pro studium tvorby virových částic. Ačkoliv se problematikou skládání nezralých retrovirových částic zabývá mnoho světových laboratoří, počáteční kroky tohoto procesu jsou stále nejasné. Pro studium funkce domén, nutných pro tvorbu počátečního intermediátu, jsme využili námi nalezenou nejkratší část strukturního polyproteinu Gag, Pro(-) CANC, schopnou vytvářet sférické částice. V této studii jsme se zaměřili na doménu, vázající nukleové kyseliny - nukleokapsidový protein. Motivy obou zinkových prstů, lokalizovaných v C-koncové části, byly nahrazeny dimerizační respektive trimerizační doménou. N-koncová oblast, sestávající se z 23 aminokyselin, byla postupně zkracována s ohledem na obsah bazických aminokyselin, které by mohly nespecificky vázat nukleové kyseliny. Příslušné proteiny byly exprimovány v *E.coli* a purifikovány pro *in vitro* experimenty. Překvapivě, náhrada RNA vazebného motivu za dimerizační či trimerizační domény, vedla k navození tvorby částic.

**Určení třírozměrné struktury dvojitého mutantu T41I/T78I matrixového proteinu Mason-Pfizerova opičích viru**

Autor: Jan Prchal  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie  
Školitel: Prof. Ing. Tomáš Ruml CSc.

Masonův-Pfizerův opičí virus (M-PMV) je prototypem D typu retrovirů. U B a D retrovirů se nezralá virová částice skládá v cytoplasmě, zatímco u C typu retrovirů (HIV) je Gag nejprve transportován k membráně, kde poté probíhá skládání nezralé kapsidy. N-koncová doména proteinu Gag, matrixový protein (MA), hraje ústřední roli v určení tohoto morfogennického rozdílu. Doposud je známa třírozměrná struktura divokého typu MA, a struktura mutantu R55F, který způsobuje změnu D typu na C typ.

V této práci se zabývám určením třírozměrné struktury dvojitého mutantu T41I/T78I, který způsobuje formování kapsid jako u D typu, ale tyto kapsidy nejsou schopny pučet skrz membránu a akumulují se na ní. Strukturu proteinu určuji pomocí heteronukleární NMR spektroskopie. Za tímto účelem jsem si připravil <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N 100% obohacený rekombinantní protein a naměřil soubor experimentů. S jejich pomocí jsem atomům proteinu přiřadil jejich chemické posuny a spočetl strukturu proteinu. Ze srovnání spočtené struktury se strukturou MA divokého typu vyplývá, že mutace nezpůsobila významné strukturní změny. Isoleuciny 41 a 78 jsou orientovány do jádra molekuly, kde mohou interagovat se zbytkem kyseliny myristové. To potvrzuje hypotézu, že změna fenotypu je způsobena znemožněním uvolnění

kyseliny myristové z jádra proteinu, což znemožňuje asociaci s cytoplasmatickou membránou.

## Povrchové mapování proteinů pomocí MALDI-TOF MS

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

Povrchové mapování proteinů dává informaci o povrchové dostupnosti jednotlivých zbytků a tím může pomoci při studiu struktury proteinu. Informace o povrchové dostupnosti se dají využít při výpočtech struktur proteinů, ke studiu interakcí proteinů nebo konformačních změn. Cílem tohoto projektu je vytvoření protokolu pro určení povrchové dostupnosti cysteinových zbytků. Při tomto postupu se protein nechá reagovat s činidlem určitým způsobem specifickým pro cystein, po určité době se činidlo odstraní a dojde tak k zastavení modifikační reakce. Protein se naštěpí specifickou proteasou a vzniklá směs peptidů se analyzuje pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization - Time Of Flight). Aminokyseliny na povrchu proteinu by se měly modifikovat a posunout ve spektru o hmotnost odpovídající použitému činidlu.

Jako vzorový protein pro modifikaci cysteinových zbytků posloužil ovalbumin, který obsahuje čtyři volné cysteiny (Cys11, Cys30, Cys367, Cys382) a jehož prostorová struktura, nutná k určení povrchové dostupnosti, je přesně známa. K modifikačním reakcím byla vybrána tato činidla reagující s thiolovou skupinou cysteinu : jodacetamid, N-ethylmaleimid a 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoová kyselina). Po prvních pokusech se ukázalo, že pouze první dvě činidla poskytují posuny ve spektru a z tohoto důvodu byla následně použita pro mapování povrchu ovalbuminu. Ačkoliv se podařilo najít vhodné podmínky pro povrchové mapování, korelace dat mezi povrchovou dostupností a reaktivitou jednotlivých cysteinových zbytků bude předmětem dalších experimentů.

## Vývoj metody ELISA pro průkaz falšování kozího a ovčího mléka

Autor: Ivan Štěpánek  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie  
Školitel: Prof. Ing. Ladislav Fukal CSc.

Falšování potravinářských výrobků je výhodným ekonomickým podvodem a postihuje všechny potravinářské komodity. Podle ČZPI jsou u nás nejčastěji předmětem falšování mimo jiné i mléko a mléčné výrobky. V této práci jsem se zaměřil na průkaz falšování kozího nebo ovčího mléka mlékem kravským. Pro problematiku byla zvolena metoda nepřímá kompetitivní ELISA pro její rychlost, finanční a přístrojovou nenáročnost.

Byly připraveny polyklonální králičí protilátky proti kaseinu, laktoglobulinu a laktalbuminu. Tyto protilátky jsem použil pro sestavení různých formátů uvedené metody. Na základě těchto experimentů jsem vybral vhodný ELISA formát pro rozlišení kozího nebo ovčího mléka od kravského.

## Srovnání rychlých metod detekce salmonel

Autor: Anette Tizolová  
Ročník: 4.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, Fakulní mikrobiologická laboratoř V Holešovičkách  
Školitel: Prof. Kateřina Demnerová

*Salmonella* je patogen působící těžké alimentární infekce, nebezpečné zejména pro malé děti, starší a oslabené jedince. Proto je kladen důraz na průkaz nepřítomnosti bakterií rodu *Salmonella* v potravinách. Cílem práce bylo porovnání rychlých metod detekce s normovanou metodou stanovení salmonel dle ČSN EN ISO 6579. Laboratorní zkoušky byly provedeny na zeleninových jednodruhových salátech, které byly uměle zaočkovány kulturou *Salmonella Enteritidis*. Saláty byly inkubovány při různých teplotách (4 °C, 13 °C a laboratorní teplota). Vzorke byly analyzovány normovanou metodou, molekulárně-biologickou metodou detekující buňky salmonel pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) a imunochemickou metodou využívající destiček Singlepath® *Salmonella* (Merck). Výsledky všech použitých metod byly shodné, všechny metody prokázaly přítomnost buněk salmonely. Výsledky analýzy pomocí PCR byly získány < 48 hodin, při použití imunodeštiček pak < 72 hodin, nejvíce časově náročná je analýza pomocí normované metody (5 dnů). Délka trvání analýzy normovanou metody je důvodem, proč je snaha o vývoj rychlých, snadných a levných metod detekce, které by spolehlivě určily co nejnižší počty buněk s minimalizací nabohacovacího kroku.

## Detekce geneticky modifikovaných organismů pomocí DNA čipů

Autor: Lucie Vištejnová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, Výzkumný ústav rostlinné výroby  
Školitel: Prof. Ing. Kateřina Demnerová, Csc.

Náš výzkum je zaměřen na vývoj DNA čipů metodou microarrays pro detekci geneticky modifikovaných organismů. Základním principem je hybridizace imobilizované DNA na skleněné podložce s DNA v analyzovaném vzorku. Detekované DNA sekvence lze rozdělit do tří skupin: cizí geny kukuřice, sóji, řepky a brambor, které umožňují určení druhu transgenu, vnitřní geny těchto rostlin pro ověření původu vzorku a 35S promotor a NOS terminátor pro prvotní průkaz genetické modifikace. Pro první experiment byly vyrobeny čipy, na kterých byly imobilizovány plasmidy obsahující hledané DNA sekvence a tytéž DNA sekvence jako produkty polymerázové řetězové reakce. Pro zjištění správné funkce čipů, hybridizace byla nejprve prováděna se stejnými DNA sekvencemi, jaké byly imobilizovány na sklech. Jako kontroly byly použity genomová DNA sóji a kukuřice a plasmidy bez insertu. Reakce probíhaly v hybridizační komoře a za různých podmínek. Hlavními parametry ovlivňující reakci jsou teplota a doba hybridizace a složení hybridizačního pufru. K vizualizaci hybridizace byly použity fluorescenční barvy cyanin-3 a cyanin-5. Naším cílem je najít vhodné hybridizační podmínky, způsob značení a ověřit DNA čipy jako vhodnou metodu pro detekci genetických modifikací v organismech.

## Metodické aspekty izolace bilirubinreduktasy

Autor: Renata Koničková  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, Hepatologická laboratoř ÚKB LD VFN  
Školitel: Prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.

Bilirubin, hlavní degradační produkt hemu, je v zažívacím traktu katabolizován střevní mikroflórou na redukční deriváty, souhrně nazývané urobilinoidy. Enzym bilirubinreduktasa však doposud nebyl charakterizován. Cílem této práce je izolace bilirubinreduktasy z kmene *Clostridium perfringens* vykultivovaného z novorozenecké stolice. Při vlastní purifikaci se využívá precipitace polyethylenglykolem, chromatografické separace proteinů (FFQ, Macro-prep CHT, Mono-Q) a závěrečné vyhodnocení na 2D-elektroforese. Jsou sledovány tři izolační přístupy bilirubinreduktasy: 1) purifikace enzymu z neindukovaných buňek, 2) purifikace enzymu z buňek, vystavených působení potenciálním induktorům bilirubinreduktasy (DMSO, hemin, barbituráty, kortikoidy) a 3) porovnání 2D-elektroforeogramů proteinové směsi získané z aktivních a neaktivních kmenů *Clostridium perfringens* a jiného aktivního druhu *Clostridium difficile*, popřípadě s využitím DIGE (Difference Gel Electrophoresis).

## Vyšetření zešíkmení inaktivace chromosomu X u žen

Autor: Jakub Minks  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, Ústav dědičných metabolických poruch, 1. LF UK  
Školitel: MUDr. Ivan Šebesta, CSc.

Dvojnásobný počet chromosomů X v porovnání s muži je u žen kompenzován inaktivací maternálního ( $X_m$ ) či paternálního ( $X_p$ ) chromosomu v jednotlivých buňkách v časném embryonálním stádiu. Výběr aktivního chromosomu je náhodný a u většiny žen jsou proto geny ve tkáních transkribovány z obou chromosomů X. Část žen však preferenčně přepisuje geny nesené na  $X_p$ , či  $X_m$ . U řady gonozomálně dědičných chorob je tíže projevů onemocnění u heterozygotek závislá na míře inaktivace zdravé alely; vzácně u nich může onemocnění probíhat stejně těžce jako u hemizygotních mužů. Zešíkmení inaktivace je proto významným hráčem ve vztahu genotyp - fenotyp.

Pro vyšetření je využito délkového polymorfismu v promotoru genu pro androgenní receptor. DNA na inaktivním chromosomu X ( $X_i$ ) je na rozdíl od aktivního ( $X_a$ ) methylovaná. Po modifikaci disulfidcyanem sodným se DNA izolovaná z leukocytů periferní krve amplifikuje a ze zastoupení obou alel na  $X_i$  a  $X_a$  se pomocí genotypování určí zešíkmení inaktivace.

Vyhodnotili jsme zešíkmení inaktivace u 67 kontrolních vzorků DNA, z nichž 7,5 % vykazovalo výrazné zešíkmení ( $\geq 20:80$ ). Vyšetřili jsme dále množství heterozygotek pro gonozomálně dědičné choroby a jejich příbuzných; příklad takového vyšetření bude prezentován. V současnosti se pokoušíme o detailnější pohled na jednotlivé geny metodu založenou na kvantitativním cSNP.

Ověřili jsme správnost bisulfidové metody a dosáhli vyšší přesnosti, než při použití methylačně senzitivních restričních endonukleas. Aplikací obou uvedených metod chceme přispět k objasnění manifestace gonozomálně dědičných nemocí u heterozygotek, vyhledat rodiny s dědičným zešíkmením X inaktivace a pokusit se najít příčiny tohoto jevu.

*Práce byla financována z grantu IGA MZNR8361-3/2005.*



**Sekce: Biochemie**

## Analýza fluorescenčně značených lipidů v rostlinných vzorcích

Autor: Eva Bartošková  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie  
Školitel: Dr. Ing. Zuzana Novotná

Fosfolipidová signální dráha je jedním z hlavních signálních mechanismů u rostlin, který řídí a ovlivňuje mnoho fyziologických procesů. Hlavními efektorovými enzymy této dráhy jsou fosfolipasy. Působením fosfolipasy vzniká řada produktů, které v mnoha případech zastávají funkci druhých posílů. Fosfolipidová signální dráha je u rostlin aktivována mimo jiné řadou biotických i abiotických stresových faktorů. Jednou z možností, jak tento systém studovat, je inkorporace syntetických, fluorescenčně značených substrátů do buněk a následná analýza vznikajících produktů. V této práci byly v buňkách BY-2 tabákové suspenzní kultury sledovány fosfolipasy využívající fluorescenční derivát fosfatidylcholinu (BODIPY-PC) jako substrát za podmínek abiotického stresu (působení  $Al^{3+}$ ). Produkty vznikající jejich působením byly analyzovány pomocí dvou metod - HPTLC a HPLC s fluorescenční detekcí. Obě metody byly vzájemně srovnány.

## Vliv inhibitorů fosfolipasy D na expresi markerových genů signální dráhy kyseliny salicylové

Autor: Matyáš Flemr  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie  
Školitel: Prof. RNDr. Olga Valentová, Csc.

Fosfolipasa D (PLD, EC 3.1.4.4) katalyzuje štěpení membránových fosfolipidů na kyselinu fosfatidovou (PA) a příslušnou polární hlavici. Bylo zjištěno, že v rostlinách plní kyselina fosfatidová funkci sekundárního posla při přenosu signálu v reakci na nejrůznější stresové podmínky. Tato práce má prokázat zapojení PLD v signální dráze kyseliny salicylové (SA). Kyselina salicylová se akumuluje v rostlinách po napadení patogenem a to jak v místě prvotního ataku, tak i v distálních částech rostliny a spouští dráhu systemické získané resistance vedoucí k produkci obranných proteinů (PR proteiny). Součástí této dráhy je i změna redoxního potenciálu buňky.

Pro studium signální funkce PLD jsme vycházeli z poznatků, že primární alkoholy, zejména *n*-butanol, blokují produkci PA fosfolipasou D. Jako modelový organismus byla použita buněčná suspenzní kultura *Arabidopsis thaliana*. Ve zvolených časech po ošetření SA a alkoholy jsme metodou RT-PCR sledovali expresi pozdního markerového genu dráhy kyseliny salicylové *PR1* a expresi časného SA-indukovaného genu *WRKY38*, který byl identifikován analýzou DNA čipů CATMA. V obou případech dochází k potlačení exprese v přítomnosti *n*-butanolu. Na základě těchto výsledků jsme se pokusili upřesnit čas působení PLD v rychlém a dynamickém rozvoji odpovědi na SA. Zároveň jsme sledovali vliv inhibitorů PLD na změnu redoxního potenciálu buňky.

## Hladina autoprotilátek proti pro-katepsinu D - optimalizace ELISA metody

Autor: Petra Havlínová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie  
Školitel: RNDr. Jarmila Zídková, CSc.

Katepsin D je lysozomální aspartátová proteasa podléající se na degradaci proteinů téměř ve všech savčích buňkách. Jedním z prekurzorů tohoto enzymu je pro-katepsin D. Předchozí studie prokázaly zvýšenou expresi pro-katepsinu D v nádorových buňkách prsu, plic a prostaty. Tento prekurzor by tedy mohl být po širším zmapování využit jako jeden z markerů určitého typu rakoviny, např. nádorových buněk prsu, v kterých se jeho nárůst zdá být nejvýznamnější.

Cílem této práce bylo vyvinout ELISA metodu pro stanovení autoprotilátek IgG proti pro-katepsinu D v séru a provést úvodní screening vybraných pacientů. Nekompetitivní ELISA je relativně snadnou metodou běžně používanou v klinických laboratořích. Je však třeba metodu pro každý protein pečlivě optimalizovat. Během vývoje této metody byl proto testován vliv teploty, doby inkubace, koncentrace protilátek a antigenu a vliv různých saturačních činidel. Testována byla séra pacientů s různými druhy karcinomu, s diagnózou některých dalších chorob, při nichž předpokládáme zvýšenou hladinu těchto protilátek (infarkt, popáleniny,...), a jako kontrola byla použita séra zdravých jedinců včetně dětí.

Finanční podpora: VZ MSMT 0021620812.

## Změny proteomu lidských krevních destiček při jejich aktivaci

Autor: Pavel Májek  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, Ústav hematologie a krevní transfuze  
Školitel: Ing. Jiří Suttner, Csc.

Aktivace krevních destiček hraje zásadní roli v jejich fyziologické funkci. Znalost proteomu krevních destiček, především jeho změn v průběhu aktivace, je v tomto směru klíčová. Pro mapování proteomu jsme izolovali lidské krevní destičky zdravých dárců. Polovina destiček byla aktivována thrombinem. Aktivovaný i neaktivovaný podíl destiček, vždy od jednoho dárce, byl po lyzaci analyzován dvojrozměrným chromatografickým systémem pro rozdělení proteinů ProteomeLab PF 2D (Beckman Coulter, Praha ČR). U každého podílu byla sestavena proteomová mapa. Následně byly porovnávány mapy aktivovaných a neaktivovaných destiček. Nalezené rozdíly sloužily jako východisko pro zjišťování změn, ke kterým v průběhu aktivace lidských krevních destiček thrombinem dochází.

## Podíl rostlinných peroxidas na odezvě k abiotickému stresu

Autor: Martin Meluzin  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie  
Školitel: RNDr. Jarmila Zídková, CSc.

Peroxidasy jsou velmi významné enzymy ze třídy oxidoreduktas. Uplatňují se hlavně při značení protilátek pro imunochemické detekce, v diagnostických metodách a bioremediacích. Hrají důležitou roli při odpovědi rostlin na stresové podněty a předpokládá se, že se částečně podílejí i na degradaci některých xenobiotik. Glykanová část těchto proteinů je velmi významným imunogenem.

Naše práce se zabývá studiem peroxidas ve vybraných rostlinných druzích, převážně v lilku černém (*Solanum nigrum*), u nichž byla předem prokázána vyšší odolnost vůči xenobiotikům, především polychlorovaným bifenyly. Tyto vybrané rostliny by mohly najít uplatnění hlavně při fytoremediacích kontaminovaných půd.

Provedli jsme charakterizaci peroxidas v lilku černém (*Solanum nigrum*), studovali jsme jejich aktivitu a jejich křížovou reaktivitu s monoklonálními protilátkami proti křenové peroxidase. Sledovali jsme aktivitu a výskyt peroxidas v biomase lilku černého (*Solanum nigrum*) v reakci na abiotický stres - směs polychlorovaných bifenyly Delor 103 a porovnali s kontrolními kulturami. Provedli jsme charakterizaci peroxidasy v takto pěstovaných biomasách pomocí dvourozměrné elektroforesy a imunoblotu.

Financování projektu: GACR 523/06/0439 a VZ MSM0021620812.

## $\alpha$ -L-Fukosidasa z kmene *Bacillus thiaminolyticus*

Autor: Ivan Novotný  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie  
Školitel: Ing. Petra Lipovová PhD.

$\alpha$ -L-Fukosidasa (EC 3.2.1.51) je lysozomální exoglykosidasa odštěpující L-fukosu z neredukujících konců oligosacharidů, glykoproteinů a glykolipidů. U některých fukosidas byla pozorována schopnost katalyzovat transglykosylační reakce, čehož by mohlo být využito pro přípravu fukosylovaných látek s využitím v medicíně. Fukosidasa byla izolována z mnoha prokaryotních i eukaryotních organismů (mikroorganismů, měkkýšů, rostlin i savců). U člověka její nedostatečnost způsobuje vážnou metabolickou poruchu - fukosidosu. Změny ve fukosylacích jsou pozorovány také u cystické fibrosy, revmatické artritidy a nádorových onemocnění. Toho by se v budoucnu mohlo využívat pro diagnostiku a sledování průběhu těchto onemocnění.

$\alpha$ -L-Fukosidasa byla izolována z bakteriálního kmene *Bacillus thiaminolyticus*. Po kultivaci a následné dezintegraci bakteriálních buněk byly proměřeny základní biochemické charakteristiky enzymového preparátu. Následně byl enzymový preparát imobilizován enkapsulací do alginátového gelu a jeho vlastnosti byly porovnány s volným. Současně byl enzym purifikován vysolením síranem amonným, chromatografií s hydrofobními interakcemi a poté ionexovou chromatografií. V budoucnu budou proměřeny charakteristiky purifikovaného enzymového preparátu, testovány transglykosylační schopnosti a provedena enkapsulace jak do alginátového gelu, tak do agarosy a chitosanu.

## Vývoj imunochromatografické metody pro detekci karbofuranu

Autor: Jan Tauber  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie  
Školitel: Ing. Barbora Holubová, PhD.

Jako ochrana kulturních plodin před nejrůznějšími škodlivými organismy se používají pesticidy. Karbofuran je syntetická chemická látka patřící do skupiny tzv. karbamátových pesticidů. Řadí se mezi insekticidy, tedy přípravky k hubení hmyzu. Přestože jsou karbamátové pesticidy v přírodě poměrně rychle degradovány není jejich používání zcela bezpečné. Zdravotní rizika mohou být velká zejména u novorozenců a malých dětí. Proto je nutné obsah těchto pesticidů ve složkách životního prostředí a v potravinách sledovat.

Lateral flow immunoassay (LFIA) je semikvantitativní analytická metoda, založená na principu papírové imunochromatografie. Pro stanovení haptenu se používá nepřímý kompetitivní formát. Na nitrocelulózovou membránu se aplikuje vzorek spolu s primární protilátkou a sekundární protilátkou značenou koloidním uhlíkem. Všechny složky vzlínají díky kapilárním silám k testovací zóně, kde se váží na imobilizovaný konjugát protein-karbofuran. Výhodou této metody je rychlost, nízká cena a snadné použití bez laboratorního vybavení.

Pro správný průběh testu je nutné nalézt vhodné podmínky pro zamezení nespecifických interakcí použitých protilátek. Během vývoje této metody byl proto testován vliv různých pufrů s různým obsahem inertních látek.

## Separace antigenů lidských spermií a jejich identifikace

Autor: Miluše Zimolová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie  
Školitel: RNDr. Jarmila Zídková, CSc.

Neplodnost, v medicíně definovaná jako neschopnost počít dítě během jednoho roku nechráněného pohlavního styku s normální frekvencí, se zdá být rostoucím problémem na celém světě. Všeobecně se předpokládá, že na každých 100 párů připadá 80 normálně plodných a 4 zcela neplodné. Zbývající páry mají sníženou plodnost, způsobenou ze 40 % poruchou vaječnicků, vejcovodů, dělohy nebo pochvy, ze 40 % patologickými spermii a z 20 % tzv. neznámými příčinami, kterým dominuje imunitní systém. Různé typy protilátek, vyskytující se v krevním séru mužů a žen, v seminální plazmě mužů, v ovulačním hlenu nebo folikulární tekutině žen, mohou snižovat rychlost spermií, bránit splnutí spermie a oocytu nebo mohou zvyšovat riziko potratu.

Předmětem práce je separace a identifikace povrchových antigenů lidských spermií. Byla optimalizována metoda přípravy povrchových antigenů. Antigeny byly získány lýzí jak úplného ejakulátu, tak swim-up spermií. Proteiny lidských spermií byly separovány pomocí SDS-PAGE a následně metodou Western blot přeneseny na nitrocelulózovou membránu, kde byly detekovány pomocí protilátek obsažených v krevním séru neplodných žen a porovnány se skupinou kontrolních sér.

Financování projektu: VZ MSMT 0021620812 a VZ MSMT 6046137305

**Sekce: Mikrobiologie a molekulární biologie**

**Genetické studie funkce vybraných faktorů metabolického syndromu**

Autor: Hanan Ibrahim Elassbli  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie  
Školitel: RNDr. Jarmila Zídková, CSc.

The human essential hypertension syndrome including also hyperlipidemia and insulin resistance is a cluster of metabolic disorders. From the genetic analysis of inbred strains of rat resulted that one of significant factors affecting the genesis of these metabolic disorders is protein CD36. Spontaneously Hypertensive Rat (SHR) can be used as a model of mutation in CD36 and study of its CD36 protein.

Analysis of purified platelet CD36 by two-dimensional electrophoresis has revealed formation of multimeric CD36. There have been differences between preparations from SHR and control WKY platelet CD36. Platelets of different strain also differ in number of receptors per cell. Results with transgenic line of rat SHR 10 and SHR 19 were studied. We have found significant differences between RNAi transfected and control nontransfected 3T3 fibroblast cell culture. 72 hours of cell cultivation seems to be optimal for transfection observation. Dose dependent transfection, optimal transfection media and work with cell culture has been already thoroughly tested including the influence to biological functions of cells.

Study of physiological role of CD36 using small interfering RNA may lead to new insights into lipid metabolism and metabolic disorders studies.

Funding: GACR 523/06/0439 and VZ MSM0021620812

**Rezistence k antibiotikům u *Enterobacter sakazakii***

Autor: Eva Kučerová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie  
Školitel: Doc. Jarmila Pazlarová CSc.

*Enterobacter sakazakii* je oportunistický patogen, který způsobuje vzácnou formu novorozenecké meningitidy a nekrotizující enterokolitidy. Tato gram-negativní nesporulující fakultativně anaerobní tyčinka byla poprvé spojena s novorozeneckou meningitidou roku 1961, tehdy ještě pod svým původním nesprávným názvem *Enterobacter cloacae*. Onemocnění způsobené *Enterobacter sakazakii* se vyznačuje neobvykle vysokou mortalitou, která může dosahovat až 80 procent, a ačkoli se většina dokumentovaných případů týká novorozenců nebo dětí do 3 let, byly zaznamenány i případy onemocnění dospělých. Nákaza vzniká u novorozenců zpravidla požitím kontaminované sušené kojenecké stravy a její léčba spočívá zejména v podávání antibiotik. Vážnou překážkou je však stále se zvyšující rezistence *Enterobacter sakazakii* vůči  $\beta$ -laktamovým antibiotikům, způsobená jeho schopností produkovat  $\beta$ -laktamázu. Účinnou alternativou je použití cefalosporinů třetí generace nebo kombinace antibiotika a  $\beta$ -laktamázového inhibitoru.

V této studii jsme sledovali vliv deseti různých antibiotik na 24 kmenů *Enterobacter sakazakii*, izolovaných z přírodních zdrojů nebo průmyslově zpracovaných karobových bobů. Výsledky prokázaly rezistenci organismu vůči  $\beta$ -laktamovým antibiotikům, za povšimnutí stojí jeho vysoká citlivost k trimethoprimu.

## Cytoskelet jako cíl toxického působení hliníku v rostlinných buňkách

Autor: Anna Křepelová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie  
Školitel: Dr. Ing. Zuzana Novotná

Toxicita hlinitých iontů představuje důležitý limitující faktor pro produkci obilí na kyselých půdách. Primárním projevem této toxicity je zástava růstu kořenů, která vede až k úhynu rostliny. Jedním z cílů toxického působení  $Al^{3+}$  je cytoskelet buňky. Po působení  $Al^{3+}$  dochází ke změně struktury mikrotubulů v buňkách a k jejich depolymerisaci za vzniku tubulinu.

Jako experimentální materiál jsme použili buňky suspenzní kultury tabáku BY-2. Pozorovali jsme změnu struktury mikrotubulů v buňkách po ošetření  $Al^{3+}$ . Proměřili jsme aktivitu fosfolipasy D zeta (PLD $\zeta$ ; EC 3.1.4.4) v mikrosomálních frakcích buněk ošetřených a neošetřených  $Al^{3+}$ .

Na základě známé regulace aktivity lidské fosfolipasy D2 (hPLD2) interakcí s tubulinem a existující homologie tubulin-vázací domény mezi hPLD2 a rostlinnou PLD $\zeta$  předpokládáme možnou regulaci rostlinné PLD $\zeta$  interakcí s tubulinem. Sledovali jsme vliv tubulinu na aktivitu PLD $\zeta$  v mikrosomální frakci. Interakci tubulinu s PLD $\zeta$  jsme studovali metodou afinitní chromatografie.

## Možnosti využití sekvencí 23S a 16S rDNA k detekci patogenů

Autor: Markéta Landová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie  
Školitel: doc.RNDr. Jarmila Pazlarová, CSc.

*Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. a *Listeria monocytogenes* jsou jedny z nejrozšířenějších patogenů způsobujících infekce z potravin. Klasické mikrobiologické metody stanovení těchto patogenů jsou pracné a časově náročné, proto jsou v posledních letech vyvíjeny nové postupy založené na imunochemických a molekulárně genetických metodách.

Tato práce je zaměřena na vývoj oligonukleotidového DNA čipu, kterým by bylo možno detekovat *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. a *Listeria monocytogenes* v jediném rozboru, sestávajícím z izolace DNA ze vzorku, amplifikace cílových sekvencí pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR), hybridizace PCR produktů s DNA čipem a analýzy získaných dat. Z literatury byly jako cílové sekvence pro detekci vybrány úseky genů 23S rDNA a 16S rDNA. Výhodou těchto genů je, že obsahují jak úseky mezi bakteriálními rody vysoce konzervativní, tak úseky variabilní. Konzervativní úseky slouží k PCR amplifikaci cílové sekvence a variabilní úseky by měly sloužit k rozlišení jednotlivých rodů na DNA čipu. Hlavní výhodou použití genů 23S rDNA a 16S rDNA, oproti použití genů pro patogenní faktory jednotlivých bakteriálních rodů, je zjednodušení PCR kroku.

## Mechanismus tvorby kovalentních řetězců proteinu SUMO-3

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

Protein SUMO-3 je strukturní analog ubikvitinu o délce 92 aminokyselin. Podobně jako ubikvitin může být SUMO-3 konjugován k buněčným proteinům a vytvářet kovalentní řetězce prostřednictvím enzymů SAE1/2, Ubc9 a E3. Touto modifikací jsou regulovány významné biologické děje jako je genová exprese, buněčný cyklus a přenos signálu. Předpokládá se, že tvorba kovalentních řetězců je v buňce indukována stresovými podmínkami, ale jejich význam ani mechanismus tvorby nebyl dosud zcela objasněn.

Cílem naší práce je studium tvorby kovalentních řetězců proteinu SUMO-3 *in vitro*, identifikace buněčného faktoru podporujícího jejich růst a také sledování jejich vlivu na osud proteinů *in vivo*. Za účelem tohoto studia byly připraveny expresní konstrukty pro SUMO-3 v bakteriálních a savčích buňkách. Naše studie *in vitro* a *in vivo* jasně prokázaly schopnost SUMO-3 tvořit kovalentní dimolekulární řetězce. Dále se podařilo zjistit, že je SUMO-3 také konjugován k enzymu Ubc9 *in vitro*. V současné době ověřujeme, zda tyto dimolekulární řetězce a modifikace Ubc9 jsou signálem pro tvorbu delších řetězců. Pomocí imunofluorescenční mikroskopie jsme pozorovali lokalizaci SUMO-3 pod cytoplasmatickou membránou savčích buněk. Nyní je sledován vliv různých stresových faktorů na lokalizaci proteinu SUMO-3.

## Charakterizace protilátek pro imunochemickou detekci yersinií

Autor: Irena Pavlíková  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie  
Školitel: Ing. Igor Hochel CSc.

Rod *Yersinia* z čeledi *Enterobacteriaceae* zahrnuje významné patogeny, které jsou příčinou gastrointestinálních onemocnění u lidí.

Cílem práce je vyvinout nepřímou kompetitivní ELISA metodu pro stanovení pathogenních kmenů *Yersinia enterocolitica* v potravinách. Pro tyto účely byly připraveny králičí imunoglobuliny proti celým buňkám *Y. enterocolitica* sérotyp O:3, O:5,27, O:8 a O:9. Byly stanoveny pracovní koncentrace imunoreagencií. Detekční limity vyvinutých imunochemických technik se pohybovaly v rozmezí  $19-22 \cdot 10^6$  CFU.ml<sup>-1</sup>. Dále byly testovány křížové interakce s 19 kmeny yersinií a s dalšími 6 kmeny enterobakterií. Imunoglobuliny proti *Y. enterocolitica* O:9 vykazovaly 10 % křížovou interakci s buňkami *Y. enterocolitica* O:3. Dále byly pozorovány slabé křížové interakce s buňkami *Y. enterocolitica* O:5,27 a blíže neurčeným kmenem *Y. enterocolitica*. Nejméně specifickými se ukázaly protilátky proti *Y. enterocolitica* O:8 a proti *Y. enterocolitica* O:5,27, u kterých byly pozorovány interakce s 8 kmeny yersinií. Vzhledem k heterogennímu charakteru studovaného antigenu nebylo možné ve většině případů křížové interakce kvantifikovat.

## Rezistence k antibiotikům u rodu *Campylobacter*

Autor: Sabina Purkrtová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie  
Školitel: doc. Jarmila Pazlarová, CSc.

Termotolerantní druhy rodu *Campylobacter*, *C. coli* a *C. jejuni*, se v poslední době staly v rozvinutých zemích jedním z nejčastěji se vyskytujících potravních patogenů způsobujícím průjemová onemocnění. Přírodním rezervoárem této bakterie jsou teplokrevní ptáci, zvláště pak drůbež. Nejčastějším způsobem nákazy jsou nedostatečně tepelně upravené pokrmy z drůbeže či křížová kontaminace připraveného pokrmu s tepelně neopracovanou surovinou. Většina kampylobakterií nevyžaduje léčení antibiotiky, která se obvykle nasazují pouze v případě dlouhodobějšího či závažnějšího průběhu onemocnění.

V posledních letech však byl v mnoha zemích zaznamenán u pacientů s kampylobakterií vzrůst rezistence k antibiotikům, zvláště k chinolonům, u pacientů infikovaných takto rezistentními kmeny se prodlužuje délka a zhoršuje průběh onemocnění. Vznik takto rezistentních kmenů je dáván do souvislosti s užíváním antibiotik při chovu drůbeže.

V naší práci se zabýváme testováním rezistence k vybraným antibiotikům u kmenů z naší sbírky termotolerantních druhů rodu *Campylobacter* a srovnáním četnosti jednotlivých typů rezistencí s výzkumy prováděnými v jiných zemích. Ve shodě se zahraničními výzkumy je nejčastěji se vyskytujícím typem získané rezistence k ciprofloxacinu a tetracyklinu.

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

Autor: Václav Urban  
Ročník: 4.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie  
Školitel: Ing. Kotrba Pavel, PhD.

Dvě ektomykorhizní houby ze skupiny *Lepidella* - *Amanita strobiliformis* a *Amanita solitaria*, akumulují Ag v koncentracích dosahujících 200 až 1250 mg Ag v kg sušiny plodnic odebraných v neznečištěných oblastech s obsahem Ag v půdě 0,07 až 1,01 mg/kg. Tyto houby jsou prvními eukaryotickými organismy u nichž byla schopnost hyperakumulovat Ag zaznamenána. Cílem tohoto projektu je objasnit intracelulární speciaci Ag a procesy vedoucí k detoxikaci tohoto kovu v plodnicích na molekulární úrovni. Dělení složek extraktů z buněk plodnic *A. strobiliformis* pomocí gelové permeační chromatografie ukázalo, že Ag je vázáno v komplexech o molekulové hmotnosti 6-10 kDa. Při následném dělení těchto frakcí ionexovou chromatografií byly identifikovány 2 peptidy o relativních molekulových hmotnostech 1,8 a 2,6 kDa, přítomné pouze ve frakcích s vysokým obsahem Ag. Specifické fluorescenční značení sulfhydrylových skupin 4-fluoro-7-sulfobenzofurazanem naznačilo, že tyto peptidy obsahují vysoké procento zbytků cysteinu. Možnost, že intracelulární Ag je vázáno v komplexu obsahujícím peptidy podobné metalothioneinům nebo fytochelatinu, je diskutována.



## Studium funkce proteinu UBL 5 v buňce

Autor: Martin Švéda  
Ročník: 3.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, Laboratoř V 05, VŠCHT Praha  
Školitel: Ing. Zdeněk Knejzlík, PhD.

Protein Ubl5, nový strukturní analog ubiquitinu, s nímž je z 23% homologní. Ubiquitin a ostatní analogy (SUMO, NEDD8, aj.) mají vysoce konzervovanou C-koncovou sekvenci GG<sup>COOH</sup>. Ubl5 má na C-konci konzervovaný motiv <sup>71</sup>YYX<sup>COOH</sup> (X = L, N, Q, S). Byla popsána účast Hub1 (ortholog Ubl5) na splicingu pre-mRNA v *S. cerevisiae*. Názory na konjugční schopnosti Ubl5 jsou ovšem nejednotné. Cílem našeho bádání je studium úlohy hsUbl5 v buňce. Sestrojili jsme konstrukty Ubl5 na N-konci fúzané s imunogenní značkou HA; na C-konci  $\Delta^{73Q}$  a  $\Delta^{71YYQ}$ . V 293T buňkách byl <sup>HA</sup>Ubl5<sup>YYQ</sup> a <sup>HA</sup>Ubl5 <sup>$\Delta^{73Q}$</sup>  jaderně lokalizován v útvech podobných Cajálním tělískům. Naopak <sup>HA</sup>Ubl5 <sup>$\Delta^{71YYQ}$</sup>  byl přítomen v cytoplazmě ve formě neznámých útvarů. Motiv <sup>71</sup>YY<sup>72</sup> má vliv na jadernou lokalizaci Ubl5. Nebyl prokázán vliv <sup>71</sup>YY<sup>72</sup> na tvorbu konjugátů Ubl5 s jinými proteiny. Prokázali jsme asociaci Ubl5 na centrozomech při mitóze. To ukazuje na možnost vazby na RNA, v jádře a centrozomech, přes aromatické zbytky Trp<sup>47</sup>, Tyr<sup>48</sup> a Phe/Tyr<sup>51</sup> a bazické N-koncové oblasti. Tato hypotéza bude testována experimenty s rekombinantním Ubl5.

**Sekce: Virologie**

## Skládání retrovirových kapsid a jejich modifikace

Autor: Šimon Bednář  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie  
Školitel: Ing. Pavel Ulbrich Ph.D.

Mason-Pfizerův opičí virus patří mezi D-ty retrovirů. Stejně jako u ostatních retrovirů jsou jeho strukturální proteiny produkovány ve formě polyproteinového prekursoru gag, který je sám o sobě schopen vytvářet virové částice. Jeho součástí je kapsidový protein (CA) nesoucí dimerizační doménu a nukleokapsidový protein (NC) obsahující vazebné motivy pro nukleové kyseliny.

V naší studii jsme využili fúzní kapsidový a nukleokapsidový protein (CANC), který je schopen *in vitro* skládat v přítomnosti nukleových kyselin virové částice. Této schopnosti vázat různé RNA i DNA by mohlo být využito pro konstrukci částic nesoucích inkorporovanou nukleovou kyselinu.

Byla ověřena schopnost CANC proteinu vbalovat plasmidovou DNA *in vitro*. V současné době se pracuje na přípravě konstruktů CANC nesoucího na N-konci specifickou sekvencí, která by cílila vznikající virové částice do určitých recipientních buněk.

## Může proteasa retrovirů D-tytu vázat nukleové kyseliny?

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

Protease Mason-Pfizerova opičího viru obsahuje na svém C-konci oblast šesti značně konzervovaných glycinů, tzv. G-patch. Tato konzervovaná doména je součástí proteinů, které se v eukaryotických buňkách podílí na procesingu RNA a mohla by být novým proteinovým modulem interagujícím s RNA. V této práci jsme se zaměřili na studium možných vzájemných interakcí mezi touto doménou a RNA.

Za tímto účelem byly pomocí PCR připraveny fragmenty, kódující proteasu M-PMV s a bez této domény, které byly vloženy do bakteriálního expresního plasmidu pET22b. Obě proteasy byly připraveny s N-terminální fúzí k epitopu hemagglutininu a pomocí mutagenese byla provedena inaktivace aktivního místa z DTG na ATG. Oba proteiny byly exprimovány v *E. coli* BL21 a purifikovány. Pro přípravu příslušných RNA jsme vybrané úseky DNA namnožili pomocí PCR, vložili do plasmidu pET22b a pro transkripci jsme využili RNA polymerasu bakteriofága T7. Pro počáteční informace o schopnosti proteasy vázat nukleovou kyselinu jsme použili imunoprecipitaci s následnou fluorescenční detekcí značených nukleových kyselin.

## Studium matrixového proteinu FIV

Autor: Lenka Kulihová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie  
Školitel: prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.

Feline immunodeficiency virus (FIV), je retrovirus patřící do rodu Lentivirů spolu s SIV (simian) a nejnámějším HIV-1 (human). Jedním z kritérií pro dělení retrovirů je místo skládání virové částice z polyproteinových prekursorů. Retroviry se takto dělí do skupin B, C a D. Lentiviry jsou retroviry typu C, jejich nezralá virová částice se začíná skládat z molekul strukturního polyproteinu Gag až po transportu k membráně a ne v cytoplasmě, jak je tomu u ostatních dvou typů. Za interakci Gag s membránou je zodpovědná N-terminální doména tohoto prekursoru- matrixový protein (MA). FIV je i přes drobné rozdíly v buněčném tropismu považován za velmi dobrý a bezpečný model HIV-1.

Cílem práce bylo vypracovat purifikační protokol pro přípravu MA FIV a získat tento protein v dostatečném množství, koncentraci a čistotě pro strukturní analýzu pomocí NMR spektroskopie. Hlavním purifikačním krokem po expresi v bakteriálních buňkách *Escherichia coli* byla afinitní chromatografie. MA byl po expresi ve fúzi se sekvencí aminokyselin, které mají autokatalytickou samoštěpící aktivitu a koncovou doménu se silnou afinitou k chitinu. Při využití tedy nebylo potřeba afinitní kotvu dodatečně odstraňovat, po vazbě na nosič (chitin) a odmytí kontaminujících proteinů se přidávkem redukčního činidla vyštěpil samotný MA FIV. Takto získaný vzorek již není třeba přečišťovat, je jej nutné zahustit na koncentraci alespoň 1 mM, limitní koncentraci pro měření 3D struktury proteinů pomocí NMR.

Úpravou podmínek exprese proteinu a lýze bylo dosaženo maximálního výtěžku při zachování stability proteinu. Nyní pracujeme na hledání vhodných podmínek, za kterých by bylo možno protein zahustit, aniž by docházelo k porušení homogenity vzorku (agregace, precipitace).

## Význam proteinu p12 ve skládání nezralé virové částice

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

Protein p12 z Mason-Pfizerova opičího viru obsahuje 83 aminokyselin a pravděpodobně obsahuje dvě strukturně nezávislé oblasti. Bylo prokázáno, že  $\alpha$ -helikální N-koncová doména je nezbytná pro skládání nezralých virových částic v infikovaných buňkách. Cílem naší práce je studium významu multimerizace p12 pro tvorbu nezralé virové částice a infektivitu virionu. S využitím elektronové mikroskopie, chemického prokřížení a ultracentrifugace se nám podařilo prokázat, že N-koncová doména proteinu p12, je schopna vytvářet nadmolekulové fibrilární útvary *in vitro*. Pomocí delečních a substitučních mutací v proteinu p12 jsme zjistili, že pro jeho multimerizaci jsou nezbytně nutné minimálně motivy LILI a LZ lokalizované v N-koncové doméně p12. Za účelem studia role těchto motivů pro skládání částic byly připraveny expresní konstrukty pro *in vitro* translaci radioaktivně značeného wtp12CANC a jeho některých mutantů v oblasti p12. wtp12CANC translatovaný *in vitro* byl schopen vytvářet částice a mutace I20A v LILI motivu snížila hustotu těchto částic. Na základě našich předběžných výsledků vyplývá, že pro tvorbu nezralých částic je nutný pouze LILI motiv, u něhož jsme pomocí CD spektroskopie také prokázali změnu jeho konformace v průběhu

multimerizace molekul p12. Data naznačují, že p12 může multimerizovat dvěma mechanismy v závislosti na vnějších podmínkách. Nyní je testováno zda se p12 podílí na fúzi buněčné a virové membrány při vstupu virionu do buňky.

## SUMOylace proteinu p12 z Mason-Pfizerova opičího viru

Autor: Pavel Moudrý  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie  
Školitel: Ing. Zdeněk Knejzlík, PhD.

Protein p12 z Mason-Pfizerova opičího viru je nezbytný pro skládání nezralé retrovirové částice v infikované buňce. V N-koncové  $\alpha$ -helikální části proteinu p12 jsme našli dva motivy  $^5\text{PKEE}^8$  a  $^{20}\text{IKLE}^{24}$ , které odpovídají konsenzuální sekvenci pro interakci se SUMOylačním enzymem Ubc9. Cílem naší práce je ověřit, zda tyto krátké aminokyselinové motivy mohou zprostředkovat SUMOylaci proteinu p12. Byly exprimovány různé mutantní formy proteinu p12 v těchto motivech v bakteriích *E.coli* BL21, které byly následně purifikovány pomocí metaloafinitní chromatografie. Divoký typ p12 a deleční mutant p12( $\Delta\text{PKEE}$ ) interagovali s molekulou Ubc9 a byly modifikovány proteinem SUMO-1 *in vitro*. Naopak deleční mutant p12( $\Delta\text{IKLE}$ ) tuto schopnost interakce postrádal. V současné době se zjišťujeme, který lysinový zbytek je modifikován SUMO-1. Pomocí bioafinitní chromatografie se nám podařilo prokázat, že se na interakci mezi Ubc9 a p12 virového původu *in vitro* podílí také C-koncová část proteinu. Tento poznatek je nyní ověřován experimenty *in vivo* v savčích buňkách.

## Enzymová glykosylace látek s antivirovým účinkem

Autor: Jan Riedl  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie  
Školitel: Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.

Mnohá antivirotika vykazují nespecifické působení a vedlejší účinky, k jejichž snížení může přispět modifikace tohoto léčiva např: glykosylace. Glykosylace látek může ovlivnit rozpustnost, propustnost přes membrány, biodostupnost a farmakokinetické účinky. Účinné látky mohou být v tkáních uvolňovány tkánově specifickými nebo cíleně vloženými glykosidasami. Enzymová glykosylace těchto látek pomocí glykosidas představuje alternativu chemické synthese a glykosylaci pomocí transferas.

V této práci byla glykosylována látka (S)-9-(2,3-dihydroxypropyl)adenin (DHPA) pomocí  $\beta$ -D-galaktosidasy z *Arthrobacter* sp. C2-2 a  $\alpha$ -L-fukosidasy z bakterie *Paenibacillus thiaminolyucus*. Byla měřena kinetika enzymové glykosylace a určen čas maximální konverze. Reakční směsi byly analyzovány na koloně High Performance Carbohydrate Column s UV detekcí. K dělení látek vzniklých během glykosylace byla použita ionexová a gelová chromatografie.

Enzymovou glykosylací bylo získáno v čase maximální konverze 40 % galaktosidů a 3,7 % fukosidů DHPA. Ze směsi galaktosidů DHPA bylo izolováno 16 mg 9-[3-(1- $\beta$ -D-galaktosyloxy)-(2S)-(2-hydroxypropyl)]adeninu. Následná fukosylace produktu dosáhla konverze 4,6 %.

## Příprava, purifikace a charakterizace proteinu Tctex-1

Autor: Vendula Rusňáková  
Ročník: 4.  
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie  
Školitel: Prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.

Tctex-1 patří mezi nejvýznamější složky dyneinového řetězce, který je zodpovědný za transport k minus konci mikrotubulů. V komplexu dyneinu se vyskytuje ve formě dimeru, jehož struktura byla již vyřešena. Nedávno bylo prokázáno, že Tctex-1 interaguje s retrovirovými proteiny. Tato interakce by se mohla podílet na specifickém cílení strukturních proteinů virové částice do místa skládání nového virionu.

Cílem práce je detailní zmapování interakce Tctex-1 s matrixovým proteinem (MA) Mason-Pfizerova opičího viru (M-PMV)

Pomocí reverzní transkripce byl z kultury lidských nádorových buněk linie 239T získán gen pro Tctex-1. Tento gen byl vložen do komerčního vektoru pET15b tak, že výsledný protein je ve fúzi s afinitní kotvou. Protein se podařilo získat v dostatečném množství, purifikován byl pomocí afinitní chromatografie na NiNTA agarose. Čistý protein byl z fúze vyštěpen thrombinem. Nyní je Tctex-1 charakterizován a zahušťován pro interakční studie.

**Sekce: Chemie a technologie sacharidů**

## Využití NIR spektroskopie při sledování kvality kakaového prášku

Autor: Martina Marešová  
Ročník: 5.  
Ústav: Chemie a technologie sacharidů  
Školitel: Ing. Anežka Veselá

V současné době stoupá spotřeba výrobků z kakaových bobů jako např. čokoláda, čokoládové pomazánky, kakaový prášek, mléčné čokoládové nápoje a další produkty vyráběné z kakaového prášku. Zdraví lidské populace je ovlivňováno kvalitou potravin. Proto by i tyto výrobky měly podléhat důkladné kontrole.

Vhodnou metodou pro kontrolu se zdá být NIR spektroskopie. Je to metoda rychlá, přesná a především nedestruktivní. Velkou výhodou je, že nevyžaduje téměř žádnou úpravu vzorku a také spotřeba vzorku na měření je minimální.

Cílem práce je ověřit možnosti NIR spektroskopie (NIR Systems 6500, Perstorp Analytical Company USA) na základě kalibrace souboru analytických údajů (obsah tuku, obsah dusíku, obsah vlhkosti) tak, aby bylo možné snadno vyloučit kakaový prášek neodpovídající kvality. *Tato práce vznikla za podpory MŠMT ČR (MSM 6046137305).*

## Charakterizace polysacharidů izolovaných z *Pleurotus* sp. a *Agaricus blazei*

Autor: Barbora Kasíková  
Ročník: 5.  
Ústav: Chemie a technologie sacharidů  
Školitel: Doc. Ing. Jana Čopíková, CSc.

Konzumace hub jako léčivých prostředků má svůj původ ve východní Asii, kde jimi lidé po staletí léčili rozmanité nemoci od nachlazení až po rakovinu. V posledních třiceti letech se po celém světě začaly vědecké skupiny intenzivně zabývat léčivými účinky hub. Bylo zjištěno, že polysacharidy, konkrétně  $\beta$ -glukany, mají schopnost posilovat imunitní systém a působit proti civilizačním chorobám i rakovině. Houby rodu *Agaricus* jsou u nás známy jako žampióny. Jednou z nejnověji objevených léčivých hub je *Agaricus brasiliensis* (*blazei*), který je díky svému mandlovému aroma nazýván žampiónem mandlovým. V osmdesátých letech dvacátého století byly prokázány imunostimulační a protinádorové účinky  $\beta$ -glukanů z houby *A. brasiliensis*. Kvůli značné adaptabilitě je rod *Pleurotus* preferován pěstiteli v mnoha zemích. Mnoho druhů rodu *Pleurotus* vykazuje farmakologické účinky, např. *Pl. florida*, *Pl. tuber-regium*, *Pl. pulmonarius*, stejně jako *Pl. ostreatus* a *Pl. eryngii*, které byly sledovány v rámci této práce.

Cílem předkládané práce je charakterizace glukanů a chitin-glukanového komplexu různých druhů *Pleurotus* sp. a *Agaricus blazei*. K dokumentaci tkáně hub je použita polarizační a elektronová mikroskopie. Obsah  $\beta$ -glukanů a celkové dietní vlákniny byl stanoven enzymaticky, v případě  $\beta$ -glukanů to byla metoda Mushroom and Yeast Beta-glucan Assay Procedure K-YBGL 10/2005 (Megazyme, Irsko), pro stanovení vlákniny byla použita metoda AOAC 991.43 (Megazyme, Irsko). Na základě tohoto enzymového stanovení  $\beta$ -glukanů

v čerstvých houbách je možno konstatovat, že třehň má vyšší obsah  $\beta$ -glukanů než klobouk. To je příznivé zjištění, protože zejména klobouky hub se používají ke kulinářské úpravě a třehně mohou být zdrojem zdraví prospěšných polysacharidů.

Pro izolaci rozpustných a nerozpustných polysacharidů byla použita modifikovaná metoda dle Freimunda (Freimund *et al.* 2003). Pro studium struktury izolovaných polysacharidů byla použita FT-IR a NMR spektroskopie. Molekulová hmotnost jednotlivých polysacharidových frakcí byla stanovena pomocí gelové chromatografie. Plynová chromatografie potvrdila, že mezi přítomnými monosacharidy je nejhojněji zastoupena glukosa pocházející z  $\beta$ -glukanů, které byly podrobeny totální kyselé hydrolyze.

*Tato práce vznikla za podpory projektu GAČR 525/05/0273.*

## Hodnocení mlynářské jakosti odrůd potravinářské pšenice

Autor: Ondřej Vagenknecht  
Ročník: 4.  
Ústav: Chemie a technologie sacharidů  
Školitel: Doc. Ing. Marie Hrušková, CSc.

Cílem práce bylo ověřit funkci laboratorního mlýna CD1 auto (Chopin) pro hodnocení mlynářské jakosti potravinářské pšenice a v systému Chopin a Individual zjistit vlastnosti laboratorně vyrobených mouk v závislosti na režimu přípravy zrna před mletím. Byla stanovena optimální funkce a opakovatelnost práce laboratorní čističky SLN3, Dánsko. Dále se provádělo stanovení optimálních podmínek mletí v režimu Individual a opakovatelnost měření mlynářské jakosti na mlýně CD1 auto v tomto režimu. Byly hodnoceny mlynářské znaky 18 vzorků komerční pšenice v režimu Chopin a Individual. Změny mlynářské jakosti pšenice byly posuzovány vlivem různé míry nakrápění a doby odležení před mletím. Pro testované soubory vzorků byly zjištěny jakostní znaky pšenice i laboratorně vyrobené mouky. Výsledky ukázaly, že mlýn CD1 auto je vhodný pro sledování mlynářských charakteristik pšenice. Při porovnání režimů mletí Chopin a Individual bylo potvrzeno, že při srovnatelných kvalitativních parametrech pšenice, závisí hodnoty mlynářských charakteristik na zvoleném režimu laboratorního zámelu a pro reprodukovatelnost výsledků musí být typ mlýna uváděn. Mlýn CD1 auto lze využít pro stanovení optimální míry nakrápění, při níž se získá nejvyšší výtěžnosti mouk i pro orientační stanovení doby odležení, která zajistí optimální efektivnost mletí při požadované kvalitě mouky.

## Analýza mísitelných náhrad kakaového másla

Autor: Tomáš Lubas  
Ročník: 4.  
Ústav: Chemie a technologie sacharidů  
Školitel: Ing. Jan Tůma

V zemích EU je od roku 2000 a v České republice od roku 2003 povolen 5% přídavek, vztažen na celkovou hmotnost, náhrady kakaového másla CBE do čokolád a čokoládových výrobků. Úkolem práce bylo ověření optimálních podmínek analýzy triacylglycerolů a stanovit obsah triacylglycerolů v souboru vzorků kakaového másla a jeho náhrad. Soubor vzorků kakaového másla a jeho náhrad byly analyzovány pomocí optimalizované metody kapilární plynové chromatografie. Výsledky jsou statisticky vyhodnoceny analýzou rozptylu.

## Aplikace spektrálních metod při analýze škrobu

Autor: Lukáš Krejčík  
Ročník: 4.  
Ústav: Chemie a technologie sacharidů  
Školitel: Ing. Petra Jankovská, PhD.

Práce se zabývá využitím nových spektroskopických metod při stanovení amylosy a amylopektinu. Jako materiál ke studiu je použito celkem 38 vzorků nativních a modifikovaných škrobů. Pro stanovení amylosy a amylopektinu byla použita spektrofotometrická metoda v UV/Vis oblasti. Obsah amylosy a amylopektinu ve vzorku škrobu byl zjištěn na základě měření absorpance při 6 vlnových délkách jeho jodového komplexu. Kromě stanovení amylosy a amylopektinu UV/Vis spektroskopii byly všechny zkoumané vzorky proměřeny na FTIR-spektrometru. Byly připraveny samonosné filmy nativních a modifikovaných škrobů, popřípadě KBr tablety. Jeden vzorek byl pokusně proměřen metodou DRIFT. Metoda UV/Vis spektroskopie umožnila stanovit amylosu a amylopektin téměř ve všech vzorcích s výjimkou 4 vzorků škrobů modifikovaných hydrolýzou. Byly popsány a přiřazeny nejdůležitější pásy zkoumaných vzorků nativních a modifikovaných škrobů. Použité spektrální metody se jeví jako velmi vhodné pro studium, jak nativních tak modifikovaných škrobů.

## Karamelizace roztoků cukrů

Autor: Tomáš Jeřábek  
Ročník: 4.  
Ústav: Chemie a technologie sacharidů  
Školitel: Doc. Ing. Jana Čopíková, CSc.

Cílem této práce bylo sledovat vliv různých reakčních podmínek při modelových pokusech na výslednou jakost, tedy hlavně na barevnou mohutnost kulérů a dojít k výsledkům, které by se daly uplatnit při technologii výroby komerčních potravinářských kulérů. Byly provedeny analýzy komerčních kulérů a výsledky byly porovnávány s kuléry vzniklými při modelových pokusech, blíže se technologickým podmínkám v provozním měřítku. Výsledné hodnoty byly vyhodnoceny statistickým programem. Dle výsledků byly navrženy optimální reakční podmínky pro průmyslovou výrobu.

## Stanovení rozpustných oligosacharidů pomocí HPAEC

Autor: Gordon K. Gomba  
Ročník: 4.  
Ústav: Chemie a technologie sacharidů  
Školitel: Ing. Andrea Hinková

Rozpustné oligosacharidy luštětin,  $\alpha$ -galaktooligosacharidy (RFO - raffinosa, stachyosa a verbaskosa) byly izolovány z různých vzorků obilí a luštěnin vodným roztokem ethanolu. Byla provedena optimalizace extrakce těchto oligosacharidů z hrachu (odrůda *Gotik* sp.) a lupiny (*Albus butan*). Cílem optimalizace bylo zjistit optimální podmínky extrakce. Vzorky luštětin byly podrobeny klíčení a následnému sušení v mikrovlnné sušárně. Pomocí aniontové



chromatografie (HPAEC) byl vyhodnocen vliv těchto procesů na obsah  $\alpha$ -galaktooligosacharidů ve zkoumaném rostlinném materiálu. Dosažené výsledky byly srovnávány s původními, tj. hodnot získaných s neupravenými vzorky.

## Separace látek kontinuální chromatografickou separací

Autor: Karel Polák  
Ročník: 5.  
Ústav: Chemie a technologie sacharidů  
Školitel: Ing. Svatopluk Henke

Práce se zabývá moderním technologickým postupem - kontinuální chromatografickou separací. Na stávající stanici KCHS-SMB-8-N je experimentálně ověřována separační účinnost na dvou sériově spojených kolonách při dělení směsi sacharosa-KCl, která modeluje zředěnou cukrovarnickou melasu.

Naměřená data z těchto diskontinuálních separačních pokusů jsou používána k výpočtu distribučních koeficientů a následnému výpočtu optimálních parametrů pro kontinuální separaci této směsi. Vypočtené parametry jsou pak použity v simulačním programu SMBmodel, který zobrazuje předpokládaný průběh a výsledky kontinuální separace.

I

## Olfaktometrické hodnocení geosminu ve vodě

Autor: Barbora Boháčková  
Ročník: 5.  
Ústav: Chemie a analýzy potravin  
Školitel: Dr. Ing. Zdeňka Panovská

Voda je základní živina, která je velmi často diskutována z hlediska sensorické analýzy. V lednu 2005 byla vydána nová norma – Metody orientační sensorické analýzy. Norma zdůrazňuje, že pracovníci provádějící orientační sensorickou analýzu se musí pravidelně účastnit sensorických zkoušek. Organoleptické vlastnosti pitné vody ovlivňuje koncentrace látek přirodně se vyskytujících v čisté vodě, pocházejících z průmyslu nebo vznikajících při úpravě vody. Geosmin je organická sloučenina, která je charakteristická výrazným zemitým pachem i v nízkých koncentracích a jeho obsah v pitné vodě (následně i v jiných nápojích) způsobuje nepříjemný pach.

Tento fakt byl impulsem pro zkoumání sensorických vlastností organické látky geosminu. Lidský nos je na tuto látku velmi citlivý a proto vhodný na sensorické studie. S použitím metod sensorické analýzy byl určován práh detekce a práh rozpoznání této sloučeniny. Na VŠCHT byl testován panel hodnotitelů skládající se z 200 osob, převážně studentů. V práci byly sledovány i parametry, které mohou ovlivnit vnímání pachu, například teplota vzorku, způsob podávání vzorku, pohlaví hodnotitele.

**Sekce: Chemie a analýza potravin I**

**Stanovení toxických pesticidů s nízkými MRL v potravinách  
rostlinného původu metodou GC/MS**

Autor: Markéta Hakenová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin  
Školitel: Prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc., Ing. Jana Tichá

Pesticidy tvoří významnou složku agrochemikálií, které se používají k ochraně zemědělských plodin. I při dodržení zásad správné zemědělské praxe (z anglického „*Good Agriculture Practise*“, GAP) může chronická dietární expozice jejich reziduí představovat pro konzumenty zdravotní riziko a to i v případě, kdy nejsou překročeny hodnoty hygienických limitů (z anglického „*Maximum Residue Limit*“, MRL) daných legislativou. Nejohroženější skupinou lidské populace jsou kojenci a malé děti, proto byl pro počáteční a pokračovací kojeneckou výživu a obilné a ostatní kojenecké příkrmy ustanoven nízký legislativní limit 0,01 mg/kg (Vyhláška č. 54/2004 Sb.).

Tento hygienický limit je přesto „nevyhovující“ pro skupinu tzv. vysoce nebezpečných pesticidů a jejich metabolitů uvedených ve směrnici Commission Directive 2003/13/EC, pro něž byly ustanoveny zvláště nízké individuální hodnoty MRL a pro některé byla dokonce zavedena zásada zákazu použití při výrobě zemědělských produktů určených pro obilné a ostatní příkrmy pro kojence a malé děti.

Předkládaná studie se zabývá validací analytického postupu stanovení reziduí těchto látek. Byly testovány dva typy matric s významně odlišným obsahem vody - jablka a mouka. V rámci studie byly určeny následující pracovní charakteristiky metody: (i) správnost, (ii) opakovatelnost, (iii) linearita metody a (iv) mez detekce (LOD) a mez stanovitelnosti (LOQ).

**Perfluorované sloučeniny: „Nové kontaminanty potravního  
řetězce“**

Autor: Petra Hrádková  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin  
Školitel: Prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc., Doc. Dr. Ing. Jan Poustka  
Konzultant: Ing. Kateřina Hájková

V současné době je při posuzování kontaminace životního prostředí a potravních řetězců věnována značná pozornost relativně „nové“ skupině organických polutantů, kterými jsou perfluorované sloučeniny. Mezi nejvýznamnější zástupce této skupiny patří perfluorooktansulfonát a jeho soli (PFOS), dále kyselina perfluorooktanová (PFOA) a perfluorooktansulfonamid (PFOSA). Zejména PFOS se vyznačuje vysokým bioakumulačním potenciálem, a může tak negativně působit na biotickou složku životního prostředí.

V rámci této práce byla inovována analytická metoda pro stanovení těchto látek v živočišných matricích. Na rozdíl od dříve používané je nová metoda založena na extrakci analytů do methanolu a následném přečištění pomocí aktivního uhlí. Takto připravený vzorek se analyzuje kapalinovou chromatografií s hmotnostně spektrometrickou detekcí (LC-MS/MS) s analyzátozem typu iontová past (ITD).

V práci jsou porovnány pracovní charakteristiky nové a původní metody a prezentovány nálezy perfluorovaných látek v játrech ryb z českých řek a v rybích výrobcích z české maloobchodní sítě.

## Optimalizace LC/MS/MS stanovení kvarterních amoniových solí v rostlinných matricích

Autor: Anna Krajčová  
Ročník: 5.  
Ústav: Chemie a analýzy potravin  
Školitel: Prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc., Mgr. Martin Jech, Ing. Ondřej Lacina

V současné době jsou kladeny stále vyšší nároky na produkci kvalitních a především zdravotně nezávadných potravin. Nutnost efektivního sledování dodržování legislativních limitů v oblasti analýzy pesticidních residuí vede k vývoji LC/MS/MS a GC/MS multireziduálních metod, pomocí nichž je možné najednou stanovit více než 100 látek. Do těchto metod ovšem nelze zahrnout všechny potřebné pesticidy, neboť některé se svými vlastnosti značně odlišují. Příkladem jsou kvarterní amoniové sole.

Kvarterní amoniové sole jsou látky, pro svůj desikační účinek, hojně používané v zemědělství. Patří mezi ně pět pesticidů: chlormequat, difenzoquat, diquat, mepiquat a paraquat. Tyto látky nejsou klasickými multireziduálními metodami stanovitelné, neboť se díky své velké polaritě příliš liší od ostatních pesticidních látek, běžně analyzovaných pomocí multireziduálních metod využívajících techniku LC/MS. K jejich separaci lze použít buď chromatografii na iontoměničích nebo iontově párovou chromatografii. Ovšem z důvodu potlačení ionizace použitou mobilní fází není ani jedna z výše uvedených technik vhodná pro kombinaci s MS detekcí, jenž je nezbytná k dosažení požadované legislativní hladiny (MRL) až 0,01 mg/kg. Řešení nabízí nové speciální kolony (Atlantis HILIC aj.), na kterých je možné tyto látky účinně separovat a následně detekovat MS.

Vývoj metody pro stanovení kvarterních amoniových solí založené na HILIC chromatografii s MS detekcí je cílem této práce.

## Vývoj a optimalizace analytické metody pro stanovení steroidních estrogenů ve vzorcích vodního ekosystému

Autor: Michaela Nápravníková  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin  
Školitel: Prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.  
Konzultant: Ing. Jana Pulkrabová, Ing. Kateřina Hájková

Steroidní estrogény jsou nově sledované kontaminanty životního prostředí, zvláště pak vodního ekosystému. Většina látek řadících se do této skupiny je vylučována z organismu v nezměněné formě. Takto se dostávají do čističek odpadních vod (ČOV), kde mohou být poté detekovány. Tyto látky jsou řazeny mezi tzv. endokrinní přerušovače (z angl. „endocrine disruptor compounds“, EDC).

Hlavním cílem této studie bylo vyvinout a optimalizovat analytickou metodu pro jejich stanovení v říčním sedimentu a říční vodě pomocí plynové chromatografie, ale bez předchozího derivatizačního kroku. Pro indikaci potenciální kontaminace bylo vybráno pět

sloučenin ze skupiny steroidních hormonů a těmi jsou estron (E1), 17 $\beta$ -estradiol (E2), ethinylestradiol (EE2), dienestrol (DIE), diethylstilbestrol (DES).

Pro říční sediment byla jako izolační krok zkoumána extrakce podpořená ultrazvukem za použití vybraných směsí rozpouštědel o různé polaritě. Pro přečištění extraktu byly testovány gelová permeační chromatografie (GPC) a extrakce na tuhou fázi (SPE). Pro vzorky říční vody postačovala SPE, která je současně i předčišťovacím krokem. Identifikace a kvantifikace cílových analytů byla provedena pomocí vysokorozlišovací plynové chromatografie s hmotnostně selektivní detekcí v módu elektronové ionizace (GC/MS-EI).

## Polycyklické aromatické uhlovodíky: riziko dermální expozice

Autor: Jan Plechatý  
Ročník: 5.  
Ústav: Chemie a analýzy potravin  
Školitel: Doc. Ing. Vladimír Kocourek, CSc., Ing. Marie Jánská

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU) jsou první skupinou látek, u nichž byla bezpečně prokázána souvislost mezi profesionální dermální expozicí a zvýšeným výskytem rakoviny kůže.

Tyto látky jsou sledovány v celé řadě jak biotických, tak abiotických matric ze životního a pracovního prostředí.

Cílem této práce, která byla provedena ve spolupráci s deníkem Mladá Fronta, bylo testování vyluhovatelné frakce PAU v rukojetích pracovního nářadí z plastů a elastomerů s ohledem na jejich potenciální migraci do pokožky pracovníka. Sledováno bylo 16 základních PAU dle US EPA a některé jejich deriváty. Izolace PAU z rukojetí byla provedena jejich modelovým vyluhováním do isooktanu. Isooktan byl vybrán jako simulant potu rukou ošetřených mastnými kosmetickými přípravky. Identifikace a kvantifikace PAU v simulantu byla provedena metodou kapalinové chromatografie s fluorescenční detekcí (HPLC/FLD) a plynové chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí (GC/MS).

Výsledky ukázaly značné rozdíly mezi jednotlivými vzorky, z čehož lze usoudit na různou kvalitu vstupních surovin používaných při výrobě (např. použití kvalitních minerálních olejů / odpadních olejů).

## Příprava interního referenčního materiálu pro stanovení fusariových mykotoxinů: pilotní studie

Autor: Lenka Štočková  
Ročník: 4.  
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin  
Školitel: Prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc., Ing. Milena Zachariášová

Mykotoxiny jsou sekundární metabolity mnoha druhů mikroskopických vláknitých hub, které se dostávají do potravního řetězce a mohou způsobovat řadu zdravotních problémů lidí a zvířat. Jednu z nejsledovanějších skupin mykotoxinů reprezentuje skupina trichothecenů, produkovaná vláknitými houbami rodu *Fusarium*. Pro efektivní monitoring výskytu mykotoxinů je důležitý neustálý rozvoj analytického procesu a vývoj nových analytických metod. Pro ověření správnosti analytických metod se využívá referenčních materiálů, jejichž vývojem se mimo jiné zabývá projekt BioCop – „New technologies to screen multiple chemical contaminants in foods“, v rámci něhož je uskutečňována i předkládaná práce.

Cílem této práce bylo ověření homogenity materiálů (extrudovaných výrobků „baby food“ a „breakfast cereals“), které by později měly sloužit jako referenční. Reprezentativní vzorky byly analyzovány metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí (HPLC/MS-MS) a k ověření homogenity bylo použito statistických testů analýzy rozptylu (ANOVA).

## Optimalizace pracovních charakteristik metody LC-MS/MS pro stanovení reziduí pesticidů v ovoci a zelenině

Autor: Jana Urbanová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin  
Školitel: Prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.  
Konzultant: Ing. Ondřej Lacina, Mgr. Martin Jech

Cílem práce bylo vytvoření multireziduální metody pro stanovení širokého spektra pesticidů metodou kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí (LC-MS/MS) v ovoci a zelenině s limitem kvantifikace pod 0,010 mg/kg (EU MRL pro dětskou výživu). Prvním krokem byla optimalizace samotné LC-MS/MS metody, následovaná výběrem vhodné extrakční techniky. Optimalizace LC-MS/MS spočívá ve volbě vhodné separace analytů tak, aby se zabránilo koeluci velkého množství analytů a nutnosti snímat velké množství MS/MS přechodů v jeden okamžik. Po optimalizaci chromatografie byly analyty rozděleny do MRM (*Multiple Reaction Monitoring*) segmentů s přihlédnutím k tomu, aby nedocházelo k velkým změnám v počtu sledovaných MS/MS přechodů během analýzy a tím ke zkreslení píků ležících uprostřed těchto změn.

Následně byly srovnávány různé varianty izolační techniky označované jako QuEChERS (akronym složený z anglických slov *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Save*) a to originální metoda, varianta používající octanový pufr a varianta s citrátovým pufrem. Porovnávány byly základní parametry jako výtěžnost, LOD (LOQ) a opakovatelnost. Vzhledem k tomu, že tato technika zahrnuje také přečišťovací krok realizovaný disperzní extrakcí na pevnou fázi (SPE) s PSA sorbentem (primární-sekundární amin), byl sledován i vliv přečištění na pracovní charakteristiky metody.

**Sekce: Chemie a analýza potravin II**

**Zhodnocení vlivu agrotechnických praktik na výskyt fusariových mykotoxinů v obilovinách**

Autor: Petr Dohnal  
Ročník: 4.  
Ústav: Chemie a analýzy potravin  
Školitel: Prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc., Ing. Monika Sehnalová

Mykotoxiny, sekundární metabolity řady druhů mikroskopických vláknitých hub, patří mezi významné přírodní toxiny, které mohou kontaminovat široké spektrum zemědělských komodit. Mohou způsobovat onemocnění souhrnně nazývaná mykotoxikózy a jsou také častou příčinou vysokých ekonomických ztrát v zemědělství. Zájmem výzkumných pracovišť je objasnění vlivu klimatických a technologických podmínek na napadení obilovin mikroskopickými vláknitými houbami rodu *Fusarium* a následné produkci mykotoxinů.

V rámci projektu NAZV QF 3121, ve spolupráci se Zemědělským výzkumným ústavem Kroměříž (ZVÚ), byla realizována studie zaměřená na zhodnocení vlivů různých technologií pěstování (orba, podmítka, předplodina aj.) na obsah fusariových mykotoxinů v obilovinách. Na Ústavu chemie a analýzy potravin VŠCHT v Praze byl na odebraných vzorcích stanoven obsah sedmi trichothecenových mykotoxinů a zearalenonu.

Vzorky obilovin byly analyzovány akreditovanou metodou LC-MS/MS: (i) extrakce směsí acetonitril:voda (84:16 v/v), (ii) přečištění extraktu na SPE kolonách MycoSep 226, (iii) kvalifikace a kvantifikace pomocí LC-MS/MS.

**Kvalita brambor z ekologické a konvenční produkce**

Autor: Petra Krejčová  
Ročník: 3.  
Ústav: Chemie a analýza potravin  
Školitel: Dr. Ing. Věra Schulzová

V současné době neustále vzrůstá zájem konzumentů o produkty ekologického zemědělství. V souvislosti s tím je věnována zvýšená pozornost hodnocení jakosti plodin z uvedených zemědělských systémů, s cílem posoudit možné rozdíly v jednotlivých parametrech kvality ekologických a konvenčních produktů. Stále více zemědělců a přistupuje k ekologickému pěstování, které přispívá k ochraně životně důležitých částí krajiny. Obsah kontaminujících látek (reziduí pesticidů, těžkých kovů, dusičnanů, atd.) je v ekologicky pěstovaných plodinách významně nižší, existuje však riziko zvýšeného výskytu přírodních toxických látek (např. glykoalkaloidů), kterými se rostlina přirozeně brání proti chorobám a škůdcům.

Cílem předkládané práce je srovnání obsahu významných a zdraví prospěšných látek stejně jako sloučenin představujících hygienicko-toxikologické riziko v hlízách brambor pěstovaných ekologickým a konvenčním způsobem. Již od roku 2002 je Ústavu chemie a analýzy potravin realizována studie, zabývající se sledováním obsahu toxických glykoalkaloidů a pro výživu důležitých látek jako kyseliny chlorogenové, vitamínu C, volných aminokyselin a dalších ve vzorcích brambor pěstovaných v lokalitách Pacovsko a Volyňsko. Bylo prokázáno, že obsah sledovaných analytů je závislý především na odrůdě a klimatických podmínkách.

## Změny obsahu glykoalkaloidů při kulinárním zpracování a skladování brambor

Autor: Kateřina Hejtmánková  
Ročník: 5.  
Ústav: Analýza potravin  
Školitel: Dr. Ing. Věra Schulzová, Ing. Petr Botek

Brambory (*Solanum tuberosum*) syntetizují rozmanité sloučeniny, které slouží jako přirozená obrana proti fytopatogenům. Mezi tyto biologicky aktivní látky se řadí také glykoalkaloidy. Uvedené přírodní toxiny mají negativní účinky na lidské zdraví (inhibují acetylcholinesterasu, poškozují buněčné membrány, atd.), a proto je důležité sledovat jejich obsah v rostlinách. Na hladiny těchto látek mohou působit různé vnější vlivy. Pomocí validované HPLC-MS/MS metody byl sledován vliv kulinárního zpracování a skladování za různých podmínek na obsah glykoalkaloidů v bramborách. Z výsledků vyplývá, že použitými kulinárními úpravami se obsah glykoalkaloidů snižuje. Při skladování jejich obsah naopak vzrůstá, a to výrazněji při skladování při vyšších teplotách (25°C) ve srovnání se skladováním v lednici (4 °C).

## Sledování obsahu karotenoidů v ovoci a zelenině

Autor: Andrea Klechová  
Ročník: 5.  
Ústav: Chemie a analýzy potravin  
Školitel: Dr. Ing. Věra Schulzová

Cílem práce bylo sledování obsahu karotenoidů ve vzorcích rostlinných materiálů. Karotenoidy jsou značně rozšířené žluté a oranžové, výjimečně také žlutozelené a červené, převážně lipofilní pigmenty rostlin a hub, řas, mikroorganismů a také živočichů. Karotenoidy se dělí na dvě hlavní skupiny, uhlovodíky nazývané karoteny a kyslíkaté sloučeniny odvozené od karotenu, které se nazývají xantofyly. Kvalitativní a kvantitativní složení karotenoidů závisí na mnoha faktorech, jako je druh a odrůda rostliny, klimatické podmínky, stupeň zralosti, způsob zpracování apod.. V mrkvi, rajčatech a paprikách se nacházejí karotenoidy v hladinách stovek  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . V rajčatech je hlavním pigmentem lykopen (běžně 90 % všech karotenoidů),  $\beta$ -karotenu je méně, asi do  $6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ .

Obsah karotenoidů v analyzovaných vzorcích byl stanoven metodou HPLC/DAD. V rámci předkládané práce byla sledována závislost obsahu karotenoidů ve vzorcích rajčat na stupni jejich zralosti, sledován byl vliv kulinárních úprav (pečení a vaření), variabilita mezi vzorky a stabilita homogenátu. Dále byly vyšetřeny rostliny s předpokládaným vyšším obsahem karotenoidů, tedy vzorky vodního melounu, nektarinek, meruněk, kiwi, jeřabin, šípků, kukuřice a také různé odrůdy rajčat.

## Zhodnocení vlivu letištního provozu na kontaminaci terestrického ekosystému

Autor: Milan Vanderka  
Ročník: 4.  
Ústav: Chemie a analýzy potravin  
Školitel: Prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc., Doc. Ing. Vladimír Kocourek, CSc., Ing. Marie Jánská

Vzhledem ke karcinogennímu/mutagennímu potenciálu některých polycyklických aromatických uhlovodíků (PAU) jsou jejich hladiny sledovány v rámci mnoha výzkumných studií a programů zabývajících se kvalitou životního prostředí. Dominantním zdroje PAU v prostředí jsou emise pocházející z různých antropogenních aktivit, jako např. různé průmyslové procesy, doprava a obecně spalování.

Tato práce shrnuje výsledky prvních dvou let čtyřletého projektu (2005-2008), jehož cílem je zhodnocení potenciálního vlivu letecké provozu na Letišti Praha Ruzyně na znečištění terestrické vegetace v okolních obcích. Sledování kontaminace cílových lokalit bylo provedeno pomocí stanovení PAU v plodinách a bioindikátorech znečištění pěstovaných v daných lokalitách.

V celé monitorované oblasti byly na plodinách (jablka, pšenice) nalézány obsahy PAU mírně nad průměrnými hodnotami zjišťovanými v minulosti jako „běžné“ na celém území ČR v rámci monitoringu životního prostředí. V žádném ze sledovaných vzorků, včetně travního porostu nedošlo k významnému překročení hladin PAU, které jsou obvyklé v městské oblasti silně zatížené dopravou, případně dalšími lokálními zdroji.

## Bromované retardátory hoření ve vodním ekosystému ČR

Autor: Dita Svobodová  
Ročník: 4.  
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin  
Školitel: Prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.  
Konzultant: Ing. Jana Pulkrabová

Jednou z nejvíce sledovaných skupin perzistentních organických polutantů (POP) v současné době jsou bromované retardátory hoření (BFR). Tyto látky se přidávají do umělých hmot, textilií, elektronických obvodů a ostatních materiálů, kde působí jako zpomalovače hoření. BFR se vyznačují značnou rezistencí vůči degradaci, vysokou lipofilitou a schopností bioakumulace v životním prostředí a v potravních řetězcích.

Cílem této studie, která je součástí projektu BIOBROM, bylo vyšetřit vzorky říčních sedimentů a odpadních kalů z čistíren odpadních vod (ČOV) pro posouzení zátěže vodního ekosystému České republiky na obsah BFR. Pro komplexní zhodnocení byly provedeny rozborů na obsah polybromovaných diphenyl etherů (PBDE) a hexabromocyklohexanu (HBCD) z lokalit v Čechách a na Moravě.

Pro izolaci analytů ze vzorků kalů a sedimentů byla použita Soxhletova extrakce. Získaný extrakt byl přečištěn gelovou permeační chromatografií (GPC). Identifikace a kvantifikace cílových analytů byla provedena pomocí plynové chromatografie s hmotnostně selektivní detekcí využívající negativní chemickou ionizaci (GC/MS-NCI).



## Barevné látky vznikající reakcemi isothiokyanátů s aminokyselinami

Autor: Magdalena Švecová  
Ročník: 5.  
Ústav: chemie a analýzy potravin  
Školitel: Dr. Ing. Karel Cejpek

Isothiokyanáty (ITC), degradační produkty glukosinolátů, patří v přirozených systémech k nejreaktivnějším složkám. Reagují s celou řadou nukleofilních látek včetně aminokyselin a bílkovin. Primární produkty reakce ITC s aminoskupinami těchto sloučenin mohou být v neutrálním a zejména alkalickém prostředí transformovány na řadu produktů, včetně žlutých, červených a modrých barviv.

Tato práce se zaměřuje na nalezení optimálních podmínek pro vznik těchto barevných sloučenin, a to především sloučenin modrých. Byl testován vliv složení reakční směsi, pH reakční směsi, koncentrace složek reakční směsi a teploty, při které reakce probíhá. Cílem práce byla i optimalizace metody přečištění, separace a izolace barevných produktů. K charakterizaci těchto chromoforů byly použity metody HPLC-PDA a LC-MS.

## Výskyt fusariových mykotoxinů v ekologicky a konvenčně pěstované pšenici

Autor : Kamila Kalachová  
Ročník : 4.  
Ústav : Ústav chemie a analýzy potravin  
Školitel : Ing. Jana Kohoutková Ph.D., Ing. Kateřina Lancová

V posledních letech je kladen důraz na snižování zátěže životního prostředí, ke kterému patří mimo jiné produkce ekologicky pěstovaných zemědělských plodin. Otázkou zůstává vliv technologie pěstování na mykotoxikologickou kvalitu těchto produktů vzhledem k vyššímu riziku jejich napadení mikromycety.

V průběhu tří let (2004 - 2006) bylo na Ústavu chemie a analýzy potravin (VŠCHT Praha) vyšetřeno celkem 108 vzorků pšenice na obsah fusariových mykotoxinů pomocí metody LC-MS/MS. Pšenice byly pěstovány ekologickým a konvenčním způsobem, přičemž v konvenční technologii byly aplikovány tři odlišné intenzity pěstování (použití hnojiv, fungicidních přípravků). Výsledky předkládané studie prokázaly nižší nálezy nejvýznamnějšího fusariového mykotoxinu deoxynivalenolu v ekologicky pěstované pšenici ve srovnání s konvenčními vzorky.

---

## Vliv kulinárních a technologických operací na obsah fusariových mykotoxinů v cereálních produktech

Autor: Alexandra Krplová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin  
Školitel: Ing. Jana Kohoutková Ph.D., Ing. Kateřina Lancová

Fusariové mykotoxiny jsou sekundární metabolity mikroskopických vláknitých hub, především rodu *Fusarium*. Tyto přírodní toxiny jsou obávanými kontaminanty širokého spektra potravin a krmiv. Trendem posledních let je snaha o minimalizaci jejich obsahů v potravinářských komoditách - počínaje v období pěstování zemědělských plodin, dále v průběhu jejich skladování a konče technologickým a kulinárním zpracováním.

V předkládané práci jsou sledovány změny obsahů fusariových mykotoxinů ve vzorcích chleba upečených z mouky, o různých hladinách kontaminace fusariotoxiny, odlišnými pekárenskými technologiemi (doba zrání těsta, pečení chleba aj.). Dále je zde zhodnocena mykotoxikologická kvalita různých obilných vloček dostupných v maloobchodních sítích ČR.

---

**Sekce: Technologie zpracování potravin I**

**Doplňky stravy pro sportovce a dodržování jejich deklarovaných  
obsahů**

Autor: Zdeněk Bartoš  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa  
Školitel: Doc. Ing. František Kvasnička CSc.

Práce je zaměřena na problematiku bezpečnosti doplňků stravy pro sportovce zejména využívané v oblasti silových sportů, jako jsou vzpírání, kulturistika a podobné. Cílem práce je zhodnotit vybrané markery (kreatin, L-karnitin, kofein, taurin, aj.) jako důležité součásti sportovních doplňků z hlediska kladného i záporného působení na sportovce a zároveň ověřit dodržování na obalech deklarovaného množství obsaženého ve výrobcích. V experimentální části byl stanoven L-karnitin v doplňcích stravy dostupných na tuzemském trhu a výsledky byly diskutovány.

**Autenticita lískooříškových pomazánek**

Autor: Stanislav Buchtelík  
Ročník: 5  
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa  
Školitel: Ing. Helena Čížková PhD.

Filbertone [ (E)-5methylhept-2-en-4on ] je těkavá látka vytvářející aroma specifické pro lískové oříšky. Podle odkazů v literatuře je filbertone jedním z markerů lískových oříšků, což je předpoklad pro posouzení množství jejich obsahu v lískooříškových pomazánkách, resp. obsahu lískooříškové pasty, která je surovinou pro výrobu těchto pomazánek. Během práce byly metodou SPME – GC/MS analyzovány komerční vzorky lískooříškových pomazánek, lískooříšková pasta, namodelované vzorky pomazánky s různým obsahem l.o. pasty a dále, z důvodu přezkoumání rušení stanovení, i jednotlivé suroviny použité při výrobě pomazánky. Zjištěné výsledky byly diskutovány ohledně vhodnosti metody pro posouzení skutečného obsahu lískových oříšků v pomazánkách.

**Metody hodnocení autenticity zrnkové kávy**

Autor: Milada Brázdová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa  
Školitel: Ing. Helena Čížková PhD.

Záměrem této práce je hodnocení autenticity zrnkové kávy a to konkrétně stanovení rozdílu dvou druhů kávy – Arabica a Robusta, na základě chemického složení spočívající v chemické analýze sterolů v modelových a komerčních vzorcích pražené kávy. Další z metod pro stanovení rozdílu mezi robustou a arabikou je stanovení celkového obsahu lipidů

a stanovení obsahu jednotlivých mastných kyselin, z nichž největší rozdíl je u olejové a linolové kyseliny.

Pomocí Soxhletu vyextrahovaný olej byl zmýdlen a nezmýdlený podíl, jehož součástí jsou steroly byl sililován a analyzován plynovou chromatografií s hmotnostním detektorem. Steroly, které byly detekovány ve větším než procentuálním zastoupení z celkového obsahu sterolů, byly tyto:  $\beta$  - sitosterol, kampesterol, stigmasterol,  $\Delta^5$  - avenasterol,  $\Delta^7$ -stigmasterol,  $\Delta^7$ -avenasterol. Z nichž nejdůležitější k rozlišení jednotlivých druhů kávy je  $\Delta^5$  - avenasterol, v robustě byl obsažen průměrně v 10 – 11 %, v arabice mnohem méně, a to v průměru 2 %.

## Studium vlastností bioaktivních obalů

Autor: Bc. Lenka Fukačová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa  
Školitel: Doc. Ing. Miroslav Marek, CSc.

Předmětem této práce bylo studium vlastností bioaktivních obalů s antimikrobní působností. Použité biodegradovatelné aktivní obaly jsou na bázi tepelně opracovaného škrobu s přídavkem hydrofobizačních látek a plnidel. Připravený škrobový obal byl za účelem zlepšení mechanických vlastností a odolnosti vůči vodě a vzdušné vlhkosti potažen 4% ethanolovým roztokem kopolyamidu 6/12, do něhož bylo přidáno antimikrobní činidlo.

Jako antimikrobní činidla byly použity kyselina benzoová a kyselina sorbová. Jejich účinnost byla testována sledováním inhibice růstu mikroorganismu *Lactobacillus helveticus* CH1. Měření růstových křivek bylo prováděno spektrofotometricky při vlnové délce 615 nm. Účinnost obou antimikrobních činidel zabudovaných do povrchové vrstvy obalu byla zkoušena také difúzními zkouškami na kyselém agaru. Na tyto zkoušky byl použit mikroorganismus *Bacillus cereus*.

## Nastavení podmínek skladovatelnosti lahůdkových výrobků – hermelínový salát

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

Hermelínový salát se připravuje z hermelínu, měkkého salámu, majonézy, vajec, cibule, soli a bílého pepře. Výrobek je nutné sledovat, protože se na rozdíl od ostatních salátů vyznačuje vyšší hodnotou pH a přítomností kulturní mikroflóry.

Hermelín se vyrábí z pasterovaného mléka. Zraje přibližně dva týdny za přítomnosti kulturní mikroflóry tvořené laktokoky, leukonostoky a kmeny penicilin. Výsledkem je sýr rovnoměrně porostlý bílou plísní.

V důsledku přítomnosti ušlechtilé mikroflóry dochází k nadhodnocování výsledků mikrobiologického rozboru.

Během práce se zjišťovala teplotní historie při distribuci výrobku od výrobce až ke spotřebiteli. Dále byl proveden mikrobiologický rozbor a stanoveny celkové počty mikroorganismů. Stanovilo se pH, aktivita vody, obsah soli stanovením ve výluhu popela titračně podle Mohra. Zjištěné hodnoty se využily pro predikční program chování

mikroorganismů – Pathogen Modeling Program, pomocí něhož se nastavilo chování nejproblematictějšího mikroorganismu v těchto výrobcích – bakterie *Listeria monocytogenes*. Ze zjištěných výsledků bylo diskutováno, jak nejlépe nastavit skladovací podmínky a uchovatelnost salátů se zrajícími sýry.

## Aktivita polyfenoloxidas a enzymové hnědnutí u jablek

Autor: Markéta Heřmanová  
Ročník: 5  
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa  
Školitel: Ing. Hana Opatová CSc.

Enzymy s fenoloxidasovou aktivitou jsou v rostlinách obecně široce zastoupeny a nejinak je tomu i u jablek. Z hlediska technologie je jejich aktivita nežádoucí, neboť tmavnutí pletiv zhoršuje senzoryckou kvalitu plodin a má tedy dopad i ekonomický. Z hlediska fyziologického hrají pozitivní roli např. v obranných reakcích pletiv. Aktivita polyfenoloxidas a koncentrace fenolů, které jsou substrátem pro reakce enzymového tmavnutí, se liší podle druhu a odrůd jablek a mění se rovněž během zrání a skladování. Studium různých druhů jablek si klade za cíl určit, které druhy podléhají enzymovému hnědnutí více a které méně a dále zjistit, zda existuje přímá korelace mezi množstvím fenolových látek v plodu a aktivitou enzymů.

## Posouzení vzniku přípachů v kukuřičných lupíncích

Autor: Michaela Hronová  
Ročník: 5.  
Ústav: Konzervace potravin a technologie masa  
Školitel: Doc. Ing. Michal Voldřich, CSc.

Cílem práce bylo identifikovat příčinu tvorby nežádoucích přípachů kukuřičných lupínků, nebo určit faktory ovlivňující vznik těchto přípachů. Byl hodnocen vliv teploty balení, význam vlivu emulgátoru a vliv obalu.

Z předchozích výsledků skladovacího pokusu kukuřičných lupínků vyplynulo, že je-li výrobek zabalený jako nevychlazený, dochází k tvorbě přípachů po kratší době skladování. Analytické hodnocení pomocí GC/MS neposkytlo kvantitativní výsledky, byl však potvrzen rostoucí trend aldehydických sloučenin v průběhu skladování i mezi vzorky zabalenými při různých teplotách. Vliv emulgátoru na urychlení vzniku nežádoucích přípachů byl vyloučen.

Vzhledem k přetrvání problému i po zabalení výrobku při teplotě nižší byly provedeny další analýzy. Pomocí SPME GC/MS byly stanoveny těkavé látky ve vzorcích a v obalu, u několika vzorků kukuřičných lupínků a krupice byl hodnocen stupeň oxidace tuků – stanovení thibarbiturového, peroxidového čísla a čísla kyselosti. Přednáška sumarizuje všechny dosažené výsledky a závěry.

## Technologie výroby kakaovo – skořicových těstovin

Autor: Išová Vladimíra  
Ročník: 5.  
Ústav: Konzervace potravin a technologie masa  
Školitel: Ing. Hana Opatová, CSc.

Cílem práce byla inovace výroby klasických těstovin o nový typ, kakaovo-skořicové těstoviny. V rámci technologického praktika bylo připraveno několik variací kakaovo-skořicových těstovin, lišících se v obsahu kakaa a skořice. Dále bylo zkoumáno, který tvar a velikost těstovin by byla pro tento typ výrobku nejvhodnější.

Dle naší nové receptury bylo připraveno několik zkušebních vzorků, které byly následně podrobeny sensorickému hodnocení – z hlediska chuti a barvy.

Těstoviny s nejvhodnější recepturou ze sensorického hlediska, byly vyrobeny ve větším objemu a následně byly dále hodnoceny.

---

**Sekce: Technologie zpracování potravin II**

**Vliv fluktuací tlaku při vaření hovězích předžaludků na uvolňování tuku**

Autor: Tatiana Kryptová  
Ročník: 4  
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa  
Školitel: Dr. Ing. Miroslav Čeřovský CSc.

Při tepelném opracování hovězích předžaludků jako polotovaru pro výrobu zmrazené dršťkové polévky se při tradičním postupu provádí dvoufázové vaření. Po předvaření se nahrazuje první vývar čerstvou vodou. Důvodem pro použití dvoufázového postupu je zmírnění typického zápachu způsobeného přítomností indolu a zejména skatolu v tkáni předžaludků.

Indol a skatol jsou jako nepolární látky obtížně rozpustné ve vodě, ale dobře rozpustné v tuku. Hromadí se proto v tukové tkáni. Zdá se, že míra odstranění zápachu může souviset s množstvím tuku, který se odstraní při předvaření.

Pro intenzifikaci průmyslového zpracování předžaludků byl navržen postup založený na tlakovém vaření kombinovaném s fázemi zpracování za sníženého tlaku.

Cílem práce je zjistit vliv používaných tlakových a teplotních režimů na intenzitu uvolňování tuku tak, aby zjištěné údaje mohly být použity k optimalizaci průmyslového postupu. Tuková bilance vychází z výsledku analýz provedených pomocí přístroje Soxtec.

**Stanovení alergenů v potravinách**

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

Arašídny patří mezi vysoce alergení potraviny, které mohou u citlivých jedinců vyvolat alergickou reakci konzumací již stop proteinu z podzemnice olejně, jež se u těchto osob projevují mírnými kopřivkami až anafylaktickými šoky ohrožující život konzumenta.

V současné době jsou nejběžnější metody stanovení alergenů bílkovin založené na principech imunochemických reakcí. Stanovení proteinů Ara H1 a Ara H2 pomocí imunochemických metod má hlavní úskalí ve vysoké ceně imunochemických setů a omezené skladovatelnosti otevřených setů. Cílem této práce bylo prověřit možnost stanovení bílkovin arašídů metodami kapilární elektroforézy, které by eliminovaly tento nedostatek.

Burské oříšky obsahují přes 29 % bílkovin, přibližně 20 % z celkového množství proteinů tvoří alergen Ara H1 (vicilin z řady globulinů - cupinů), mající 63 - 64 kD, a okolo 10 % alergen Ara H2 (conglutin z řady protaminů), mající 17 kD. Tyto proteiny jsou zároveň nejčastější příčinou alergických reakcí.

V této práci byly srovnány výsledky měření a stanovení alergenů Ara H1 a Ara H2 elektromigrační (kapilární elektroforéza) metodou a neprecipitační imunochemickou (sandwich ELISA) metodou.

## Studium iridescence masných výrobků

Autor: Michaela Petrová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa  
Školitel: Prof. Ing. Petr Pipek CSc.

Iridescence je přirozený optický jev, vyskytující se na syrovém mase a na nároji celosvalových masných výrobků. Je důsledkem mikrostrukturální difrakce světla myofibrilami. Projevuje se barevnými odchylkami většinou zelené nebo žluto-oranžové barvy. Kvůli zelenému odstínu bývá mnohdy mylně považována za známku mikrobiální zkázy. Na výskyt a intenzitu iridescence má vliv obsah vody na povrchu masného výrobku, úhel dopadajícího světla, úhel, pod kterým byl masný výrobek krájen (plátkován), typ svalu použitý pro výrobu a některé technologické operace při zpracování. K hodnocení změn tohoto jevu v závislosti na různých podmínkách bylo použito reflexní spektrofotometre a analýzy obrazu, pro vyloučení souvislosti s mikrobiálním napadením byly srovnány četnosti mikroorganismů (CPM, LB, koliformní) čerstvých vzorků s iridescencí, bez iridescence a výrobků záměrně zkažených. Mikrobiologický rozbor prokázal, že iridescence na povrchu masných výrobků není mikrobiálního původu a ani její zelený odstín není způsoben mikrobiální degradací hemových barviv. Analýzou obrazu bylo zjištěno, že se v průběhu vysychání mění jak plocha iridescence, tak i odstín jednotlivých barev. Na její rozsah a intenzitu má tedy vliv obsah vody na povrchu masného výrobku, jejíž ztráta při vysychání má za následek přibližování jednotlivých svalových vláken a změnu průměru jednotlivých vláken.

## Příprava obalových materiálů na bázi biodegradovatelných polymerů

Autor: Tomáš Petřík  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa  
Školitel: Doc. Ing. Miroslav Marek, CSc.

Byla připravena řada biodegradovatelných materiálů na bázi škrobu s přidavkem různých aditiv a hydrofobizujících činidel (stearan vápenatý, kaolín, polyvinylalkohol, vlákna na bázi polyesteru a celulosy). Připravené obaly byly potahovány vrstvou kopolyamidu 6/12. Byla testována jejich mechanická odolnost, odolnost vůči vzdušné vlhkosti a vůči působení vody v přímém kontaktu s nimi. U některých obalů byly provedeny zkoušky biodegradability. V další části práce byla provedena tepelná a chemická modifikace bramborového škrobu působením trimetafosfátu a kaprolaktonu s cílem připravit obalový materiál jako směs takto upraveného škrobu a biodegradovatelných polymerních materiálů společně s dalšími aditivami zlepšujícími vlastnosti obalů na bázi samostatného škrobu.

Při výběru materiálů, metod a postupů bylo přihlíženo k možnosti získání surovin včetně využití odpadů (např. saturačního kalu) a k realizovatelnosti laboratorních postupů ve výrobní praxi. V této souvislosti byla věnována pozornost vypracování studie proveditelnosti (feasibility study), jejíž součástí bylo provedení SWOT analýzy.



## Balení potravin v modifikované atmosféře – teorie a skutečnost

Autor: Lucie Sedláková  
Ročník: 5  
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa  
Školitel: Ing. Alena Dokulilová

Balení potravin v modifikované atmosféře se v praxi využívá k prodloužení doby skladovatelnosti a k zajištění kvality potravin. Působením vnějších vlivů může u potravin docházet ke změnám mikrobiálním, enzymatickým, fyzikálním (vysoušení) a chemickým (především oxidace), jejichž intenzita závisí právě na složení okolní atmosféry.

Výrobci hojně využívají této metody právě k potlačení těchto nežádoucích vlivů, tím prodloužení doby skladovatelnosti a tedy dosažení ekonomickému zisku. Tato moderní metoda je však dosti finančně nákladná a ne vždy je využívána vhodně. Správné použití metody závisí i na použití vhodného obalového materiálu, správného uzavírání obalů a správné manipulaci s již zabalenými potravinami.

Ne vždy musí být postupy výrobců správné. Zaměřujeme se tedy na správnost a vhodnost použití modifikované atmosféry měřením jejího složení v čase, a dále vhodností použitého obalu zjišťováním jeho propustnosti. Tyto parametry se hodnotí u výrobků zakoupených v obchodní síti i u výrobků přímo dodaných výrobcem.

Výsledky by měly posloužit k lepšímu zorientování se v množství potravin balených pomocí modifikované atmosféry a posoudit jak kvalitně je tato metoda používána.

## Studium vlastností polymerních obalových materiálů s Ag-zeolity

Autor: Naďa Strouhalová  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa  
Školitel: Ing. Eva Milatová, Ing. Kamila Klaudisová, Ph.D.  
Doc. Ing. Jaroslav Dobiáš, CSc.

Jedním ze způsobů, jak prodloužit údržnost balených potravin, je omezení růstu mikroorganismů použitím obalů s antimikrobní aktivitou. Mezi takové patří i obaly obsahující minerální zeolity s navázanými kationy stříbra vykazující mikrobicidní aktivitu vůči bakteriím, kvasinkám i plísním. Cílem této práce bylo dokázat antimikrobiální účinek obalu s inkorporovaným stříbrem ve formě Ag-zeolitu. Testovány byly fólie z LDPE a cyklistické lahve z HDPE. Migrační testy uvedených obalů prokázaly, že stříbro se ze zkoušených obalů do simulantů potravin neuvolňuje. Nebyl také potvrzen jejich inhibiční účinek vůči indikátorovým mikroorganismům *Pseudomonas fluorescens* a *Escherichia coli* kultivovaných v kapalném médiu v kontaktu se sledovanými obalovými materiály. Sledován byl i vliv obalové fólie s Ag-zeolity na celkový růst mikroorganismů na povrchu baleného sýru typu Eidam. V tomto případě byl inhibiční účinek zkoušených materiálu neprůkazný. U cyklistických lahví byla testována i rychlost růstu bakterií na vnitřním povrchu. Byl zjištěn průkazný rozdíl mezi běžným obalem a obalem s obsahem Ag-zeolitu, na němž byl růst bakterií významně pomalejší. Uvedené výsledky nasvědčují, že v odborné literatuře uváděná účinnost obalů s Ag-zeolity je způsobena spíše oligodynamickým účinkem obalu na mikroorganismy přítomné na jeho povrchu, než inhibicí bakteriálních buněk v důsledku navázání kovu na jejich povrch.

## Vliv technologického zpracování na obsah alergenů

Autor: Michaela Vízková  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa  
Školitel: Ing. Jan Pivoňka

Vzhledem k tomu, že arašídů patří mezi frekventované alergenní potraviny s nízkou prahovou dávkou a častými intenzivními reakcemi, je jejich obsahu v potravinách věnována zvýšená pozornost. Je žádoucí přítomnost antigenu v potravinách vyloučit popřípadě potlačit účinek bílkoviny v lidském organismu například změnou její struktury. Toho lze dosáhnout u různých bílkovin různými fyzikálními zákroky, nelze však způsob ošetření paušalizovat a pro každou bílkovinu je třeba posoudit účinek individuálně.

V této práci byl zkoumán účinek vysokého tlaku na klíčové bílkoviny arašídů tvořené proteiny Ara H1 a Ara H2, ve vysokotlakém zařízení byly ošetřeny vzorky arašídů tlakem 500 MPa po dobu jedné hodiny a pomocí imunochemických setů RIDASCREEN®FAST Peanut (sandwich elisa) pro stanovení výše uvedených proteinů byl kvantifikován jejich obsah před a po stlačení.

## Barevné změny hrášku při blanširování

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

Práce se zabývá barevnými změnami hrášku při blanširování ve vodní lázni, které spočívají především v přeměně chlorofylu na olivově hnědý pigment feofytin, tzv. feofytinaci. Ta se projevuje tmavnutím a celkovým zhoršením barvy produktu, která může negativně ovlivnit smyslové hodnocení konzumenty. Feofytinace probíhá v různém měřítku v závislosti na pH, teplotě a době blanširování. Vedle tvorby feofytinu dochází v jisté míře i k vyluhování chlorofylu do blanširovacího média.

Produkt byl hodnocen kolorimetricky, fyzikální parametry  $a^*$ ,  $b^*$  a  $L^*$  byly použity k sestavení termoinaktivační čáry zelené barvy hrášku při různých pH. Zároveň byl vyhodnocen nejkratší čas, během kterého dochází ke smyslově postřehnutelné změně barvy. Na základě těchto zjištění je pak možné stanovit optimální podmínky pro blanširování (čas, teplota, pH).

**Sekce: Technologie zpracování potravin III**

**Barevné změny trvanlivých salámů**

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

Barevné změny trvanlivých salámů jsou patrné na nákreji již po několika dnech skladování. Jsou způsobeny oxidací hemových barviv. Oxidace tuků tyto barevné změny značně urychluje. K omezení těchto nežádoucích změn lze použít některé extrakty z koření, které působí antioxidačně.

K vyhodnocení barevných změn není vhodné použít reflexní spektrofotometrii. Při měření se totiž zahrnuje průměrné hodnoty celého pole snímaného spektrofotometrem, tedy i části díla, které nejsou předmětem měření. Pomocí analýzy obrazu (program NIS elements 2.0) byla měřena barva v nákreji trvanlivého salámu Vysočina. Na snímcích nákreje salámu získaných pomocí scanneru a digitálního fotoaparátu se vhodným naprahováním, oddělily plochy odpovídající svalovině od ostatních ploch (tuk, koření, vzduchové bubliny, pozadí) a změřila se jejich barva. Z naměřených hodnot barvy byly vypočteny barevné podíly červené r, zelené g a modré b. Dalším prahováním se oddělily a změřily plochy barevně změněné svaloviny. Barva ve vnější vrstvě salámu byla odlišná od barvy ve středu salámu. Souvisí to s rozdílnou aktivitou vody (vliv na mikroflóru) a rozdílným přístupem kyslíku v jednotlivých vrstvách. Tyto faktory ovlivňují průběh oxidace a tím i barvu.

**Stanovení kalysteginu v různých odrůdách brambor**

Autor: Petra Ďuriniková  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa  
Školitel: Ing. Rudolf Ševčík

Kalysteginy jsou polyhydroxyalkaloidy s nortropanovou kostrou. Mohou obsahovat tři až pět hydroxylových skupin v různých pozicích. Kalysteginy byly nalezeny v listech a slupkách hlíz brambor. Složení a jejich koncentrace jsou proměnlivé mezi rostlinami i uvnitř jedné rostliny. Nejvíce se vyskytuje kalystegin B2, rozšířené jsou i kalysteginy A3 a B1. Na rozdíl od glykoalkaloidů se vyšší koncentrace kalysteginů nacházejí v hlíze a ne v nadzemních částech rostlin. Díky podobnosti s monosacharidy vykazují kalysteginy významnou aktivitu jako glykosidázové inhibitory.

V naší práci byly porovnány obsahy kalysteginů v různých částech bramborových hlíz u dvou odrůd brambor. Pro stanovení ve vzorcích brambor byla použita metoda plynové chromatografie s hmotnostním detektorem, která byla porovnána s kapilární elektroforézou.

## Obaly potravin s natamycinem

Autor: Kristýna Hanušová  
Ročník: 4.  
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa  
Školitel: Doc. Ing. Jaroslav Dobiáš, CSc.

Funkcí aktivních obalů je především prodloužení údržnosti a zajištění zdravotní nezávadnosti potravin. Jednou z možností aktivního balení potravin je použití obalu s antimikrobní funkcí, který je schopen zabránit mikrobiální zkáze potravin. Cílem práce bylo v laboratorních podmínkách nanést na LDPE fólii upravenou koronovým výbojem vrstvu potravinářského laku obsahujícího polyenové antibiotikum natamycin, které vykazuje fungicidní vlastnosti vůči většině plísní a kvasinek, poté experimentálně stanovit průběh migrace tohoto činidla do destilované vody metodou HPLC a ověřit jeho fungicidní účinnost v modelovém prostředí proti plísním *Fusarium proliferatum* a *Penicillium commune*.

## Krystalizace fosfátů na povrchu masných výrobků

Autor: Jiří Kašík  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa  
Školitel: Prof. Ing. Petr Pipek CSc.

Při chladírenském skladování masných výrobků dochází k difuzi fosfátů na povrch. Tento jev se projevuje zejména u měkkých a trvanlivých salámů, na jejichž povrchu vytvářejí pronikající fosfáty povlak bílých krystalků.

Vývoj pronikání fosfátů na povrch salámů byl vizuálně sledován v provozních podmínkách ve dvou chladírnách a sušárně. V obou chladírnách se na povrchu salámů začaly objevovat první krystalky fosfátů druhý den od výroby a jejich množství se zvyšovalo úměrně s časem. V sušárně se však první krystalky vytvořily až devátý den od výroby a další jejich přibývání bylo zanedbatelné. Byly odebrány vzorky a vyhodnoceny analýzou obrazu. Potvrzují, že to byl  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .

Na difuzi fosfátů má vliv řada faktorů jako teplota, relativní vlhkost a rychlost proudícího vzduchu. Dále je to poloha umístění výrobků ve vozíčku a míra zaplnění vozíčku. Princip difuze spočívá ve vyrovnávání nižšího osmotického tlaku ve vrstvičce zkondenzované páry na povrchu výrobků. Difuze probíhá tím intenzivněji, čím je teplota, relativní vlhkost a rychlost proudícího vzduchu nižší.

Po sedmnácti dnech pozorování výrobků v chladírnách byl kvantitativně analyzován bílý povlak. Na rozbor byla použita kapilární isotachoforesa a z výsledků vyplývá, že povlak je tvořen  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  jako majoritní složkou, chloridů je zde obsaženo o jeden až dva řády méně.

## Stanovení ftalové kyseliny kapalinovou chromatografií a elektroseparačními technikami

Autor: Iveta Kolková  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa  
Školitel: Doc. Ing. Jaroslav Dobiáš, Csc.

Polyethylentereftalát (PET) je jedním z obalových materiálů často používaných v potravinářství. Má vysokou pevnost, tepelnou i chemickou odolnost a dobré bariérové vlastnosti. Rezidua isomerů kyseliny ftalové představují potenciální migranty z PET obalů do potravin, např. pro migraci kyseliny tereftalové je evropskou legislativou stanoven specifický migrační limit 7,5 mg/kg potravin. Náplní mé práce bylo vyvinout a ověřit metodu na principu elektroseparačních technik vhodnou pro studium migrace isomerů kyseliny ftalové do potravin a tu porovnat s běžně používanými metodami chromatografickými.

Z výsledků vyplynulo, že metoda HPLC je velmi citlivá (mez detekce je v rozmezí 0,08 – 0,15 mg/l pro isomery kyseliny ftalové), ale je příliš časově náročná (15 – 20 minut). Vyvinutá metoda na principu kapilární elektroforesy byla méně citlivá (mez detekce je v rozmezí 0,85 – 6,90 mg/l), ovšem velkou výhodou byla její rychlost (doba analýzy cca 5 minut).

## Problematika přípravy spor *Clostridium tyrobutyricum*

Autor: Lenka Kroupová, Eva Pařilová  
Ročník: 4.  
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa  
Školitel: Dr. Ing. Miroslav Čeřovský, Ing. Petra Klodnerová

*Clostridium tyrobutyricum* je anaerobní grampozitivní sporulující bakterie, která je příčinou velkých ekonomických ztrát zejména při výrobě sýrů, u nichž způsobuje pozdní duření. Byla izolována i z pasterované ovocné dětské výživy s přídavkem mléčné složky. K minimalizaci výskytu této bakterie v dětské výživě je nutná znalost jejích termoinaktivačních parametrů, D- a z-hodnoty. Pro úspěšné provedení testů tepelné odolnosti spor této bakterie je nutné připravit suspensi o dostatečně vysoké koncentraci spor.

Cílem práce bylo připravit suspensi o koncentraci spor alespoň  $10^8 \text{ cm}^{-3}$ . Doposud se v naší laboratoři podařilo dosáhnout koncentrace spor pouze  $10^4 \text{ cm}^{-3}$ . Pro přípravu suspence jsme ověřovali publikovanou metodu využívající dialyzační celulosovou membránu.

## Oxidace v játrových masných výrobcích

Autor: Miroslava Topinková  
Ročník: 4.  
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa  
Školitel: Prof. Ing. Petr Pipek CSc.

Lipidy v masných výrobcích obsahujících kachní a husí játra podléhají snadno oxidaci, protože mají velký podíl nenasycených mastných kyselin. Produkty oxidace lipidů podporují oxidaci hemových barviv, což se projeví změnou barvy na šedou. Oxidaci lze omezit přídavkem přírodních antioxidantů, např. rozmarýnového extraktu, šafránu nebo šalvěje.

Byla sledována změna barvy výrobku během skladování a hledána nejvhodnější metoda pro sledování těchto barevných změn. Byla vyzkoušena analýza obrazu a reflexní spektrofotometrie. Při reflexní spektrofotometrii byl použit přístroj (Minolta CM2600d); z naměřených reflexních spekter byla vypočtena (software Spectramagic) světlost  $L^*$  a barevné souřadnice  $a^*$  a  $b^*$  charakterizující barevný odstín. K snímání vzorků byl použit scanner a digitální fotoaparát. Pro vlastní analýzu obrazu byl použit program NIS – Elements. Pomocí funkce prahování odstranily nežádoucí plochy a byly změřeny veličiny střední šedá, červená, modrá a zelená a barevný odstín hue. Ze získaných hodnot byly vypočteny podíly červené zelené a modré barvy (r, g, b). Sledovaly se změny uvedených veličin při ponechání výrobku na světle. Další sledování bude zaměřeno na úpravu receptur a použití přírodních antioxidantů.

## Porovnání složení a prací účinnosti pracích prášků a pracích gelů

Autor: Pavlína Kubásková  
Ročník: 3.  
Ústav: Ústav technologie mléka a tuků  
Školitel: Ing. Lenka Poláková

Cílem práce bylo porovnání prací účinnosti čtyř pracích prášků a jim odpovídajících pracích gelů, které jsou běžně dostupné na našem trhu.

Stanovení složení pracích prášků a pracích gelů bylo zaměřeno zejména na stanovení obsahu látek rozpustných v ethanolu, obsahu solí, obsahu aktivního kyslíku (pouze u pracích prášků) a na stanovení sušiny (pouze u pracích gelů). Obsah látek rozpustných v ethanolu se pohyboval v rozmezí 5-48 hm.% pro prací gely a 1-20 hm.% pro prací prášky, obsah solí v rozmezí 0-0,07 hm.% pro prací gely a 0-0,55 hm.% pro prací prášky, obsah aktivního kyslíku v rozmezí 0,014-5,3 hm.% pro prací prášky a obsah sušiny v rozmezí 14,7-59,1 hm.% pro prací gely.

Prací účinnost se stanovila následovně. Uměle zašpiněný textilní materiál se pral za přesně definovaných podmínek v laboratorní pračce. Dosažený prací efekt se vyhodnocoval na základě změny optické remise. Optická remise (zjasnění Z) se používá na hodnocení degradace bílého materiálu a na měření efektivnosti bílení. Optická remise se měřila pomocí reflektančního spektrofotometru LabScan Xe.

Prací účinnost pracích prášků a pracích gelů zhruba odpovídá jejich složení, tedy obsahu látek rozpustných v ethanolu, které se na prací účinnosti nejvíce podílí.

## Výběr jogurtové kultury pro sójové výrobky

Autor: Marcela Pavlasová  
Ročník: 3.  
Ústav: Ústav technologie mléka a tuků  
Školitel: Dr. Ing. Jana Chumchalová, Ing. Milan Dvořák

Sójové fermentované výrobky patří k zajímavému rozšíření sortimentu výrobků s funkčními vlastnostmi, jako je hypocholesterolemický efekt, prevence proti poruchám kardiovaskulárního systému, osteoporose a některým druhům onkologických onemocnění. Cílem této práce byla aplikace směsných jogurtových kultur - YO-401 (Danisco), Laktoflora (Milcom) a YC-350 (Hansen) - do daného sójového média, dále hodnocení kvality vzniklých

fermentovaných výrobků (měření titrační a aktivní kyselosti, stanovení počtu bakterií jogurtové kultury) a vybrání vhodné kultury pro dané sójové médium s přihlédnutím k sensorické analýze.

Z naměřených hodnot získaných v průběhu fermentace (při teplotě 35 °C po dobu 8 hodin) byly vytvořeny růstové křivky. Nejlepší výsledky dosahovala kultura od firmy Hansen, která nejlépe prokysávala a dosahovala po kultivaci nejvyšších počtů streptokoků a laktobacilů.

Celkové počty jogurtových kultur v připravených výrobcích pro sensorickou analýzu (fermento-váno do pH 4,6) přesahovaly hodnoty  $10^8$  JTK.g<sup>-1</sup>, přičemž obsah streptokoků byl srovnatelný ve všech třech kulturách (v řádu  $10^8$  JTK.g<sup>-1</sup>). Nejvyšší počty laktobacilů byly zaznamenány rovněž u kultury Hansen ( $1,4 \times 10^8$  JTK.g<sup>-1</sup>). Pomocí Friedmanova testu bylo zjištěno, že se výrobky na hladině významnosti ( $\alpha = 0.05$ ) mezi sebou sensoricky výrazně nelišily.

## Vliv vybraných hydrokoloidů na mechanické vlastnosti gelu $\kappa$ -karagenanu v mléce

Autor: Jaroslava Šilhavá  
Ročník: 3.  
Ústav: Ústav technologie mléka a tuků  
Školitel: Ing. Jiří Štětina, CSc.

Byl hodnocen vliv přídatku vybraných hydrokoloidů (guarová guma, lokusová guma a konjaková guma) na mechanické vlastnosti a uvolňování vody gelů rafinovaného  $\kappa$ -karagenanu v obnoveném odstředěném mléce. Pro přípravu gelu bylo použito 0,5 % směsi hydrokoloidů standardizované na obsah 10 % KCl, ve které podíl galaktomannanů, respektive glukomannanu činil 5 až 50 %. Mechanické vlastnosti gelů byly vyhodnoceny metodou vtlačování válcové sondy do gelu při teplotě 10°C. Byla hodnocena elasticita (tuhost), pevnost, deformovatelnost a přilnavost gelu.

Elasticita gelu se snižovala s rostoucím podílem lokusové a guarové gummy, zatímco gely s podílem konjakové gummy do 20 % vykazovaly nárůst elasticity, následně se elasticita také zmenšovala. Deformovatelnost gelu karagenanu byla nezávislá na podílu guarové gummy, se zvyšujícím se podílem lokusové gummy měla slabě rostoucí charakter. Největší nárůst deformovatelnosti se projevil u gelu s podílem konjakové gummy, kde při 50% podílu vůbec k lomu gelu nedošlo. Pevnost gelu směsí s obsahem lokusové a guarové gummy klesala, naopak rostla se zvyšujícím se podílem konjakové gummy ve směsi.. Přilnavost gelu klesala se zvyšujícím se podílem všech hodnocených hydrokoloidů.

**Sekce: Chemie přírodních látek**

**Metody testování aktivity inhibitorů galaktosyltransferas**

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

Galaktosyltransferasy jsou enzymy, které přenášejí galaktopyranosovou jednotku na glukosamin nebo laktosamin za vzniku oligosacharidových epitopů glykokonjugátů, které se účastní buněčného rozpoznávání. Inhibitory těchto enzymů jsou proto považovány za perspektivní léčiva např. onkologických onemocnění. Inhibiční aktivita byla dříve téměř výhradně sledována pomocí radioaktivně značených galaktosyldonorů, ale současný rozvoj instrumentálních technik nabízí i další metody. Úkolem této práce bylo vypracování metodiky na testování glykosylfosfonátů připravených na ústavu. Byla optimalizována metoda využívající hmotnostní spektrometrie s ionizací elektrosprejem v negativním operačním režimu a jako alternativní metoda byla dále studována HPLC. Prvním krokem v obou případech bylo testování standardních směsí donoru (galaktosyl-uridindifosfát) a akceptoru (benzyl- $\beta$ -D-N-acetyl-2-amino-2-deoxyglukopyranosid) v roztoku pufru a chloridu manganatého s laktosou jako interním standardem, do nichž byly přidávány komerčně dostupné enzymy.

**Aplikace imunoanalytických metod ve fytochemii**

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

Isoflavonoidy patří mezi rozsáhlou skupinu flavonoidů, sekundárních metabolitů rostlinné říše. Vyskytují se v převážné většině v rostlinách čeledi *Fabaceae*, byly však detekovány v dalších více než padesáti čeledích. Isoflavonoidy vykazují řadu zajímavých farmakologických účinků, vyskytují se mezi nimi např. estrogeny a antiestrogeny, antioxidanty, bakteriostatika a další.

Účelem prezentované práce je využití imunoanalytických metod ke studiu výskytu isoflavonoidů v rostlinných druzích, které z tohoto pohledu dosud nebyly zkoumány.

Pro stanovení daidzeinu, genisteinu a biochaninu byly použity ELISA metody, vyvinuté na našem pracovišti. Imunoreaktivita naznačující možnou přítomnost výše uvedených isoflavonoidů byla zaznamenána v druzích *Aralia spinosa* a *Hedera helix*, které patří do čeledi *Araliaceae*. V současnosti se zabývám chromatografickou identifikací imunoreaktivních látek z výše uvedených druhů.



## Imunoafinitní sorbenty pro isoflavonoidy

Autor: Elena Prokudina  
Ročník: 5.  
Ústav: Chemie přírodních látek  
Školitel: Doc. RNDr. Oldřich Lapčík, Dr.

Při analýze biologických materiálů je často nutná jejich předběžná úprava, která předchází vlastní chromatografické analýze. Takovou vysoce selektivní metodou extrakce na pevnou fázi je imunoafinitní chromatografie. Tato práce se zabývá přípravou imunoafinitních sorbentů pro isoflavonoidy daidzein, biochanin A a genistein. Protilátky proti konjugátům 7-O-karboxymethyl–isoflavonoidů s hovězím sérovým albuminem (BSA) byly izolovány z králíčího antiséra precipitací síranem amonným. Připravená imunoglobulinová frakce byla imobilizována na N-hydroxysukcinimidovém derivatizovaném agarosovém nosiči Affi-Gel 10 (Bio-Rad Labs.). Kapacita připravených imunisorbentů byla zjištěna za pomoci  $^{125}\text{I}$ –značeného haptenu-tyrosylmethylesterového konjugátu, používaných v RIA, a řady roztoků standartů biochaninu A, daidzeinu a genisteinu. Jako eluční organické rozpouštědlo se osvědčil chladný 90 % methanol. Kapacita získaných sorbetů byla 10  $\mu\text{g/ml}$  gelu pro daidzein, 0,1  $\mu\text{g/ml}$  gelu pro biochanin A a 10 ng/ml gelu pro genistein.

Poděkování: Práce vznikla za podpory projektu 525/06/0864 GAČR

## Ab initio studie reakčního mechanismu acetylace modelových látek sacharidů

Autor: Jiří Šrajer  
Ročník: 5.  
Ústav: Ústav chemie přírodních látek  
Školitel: Dr. Ing. Ivan Raich

Detailní znalost reakčního mechanismu acetylace sacharidů jakožto polyhydroxyaldehydů nebo -ketonů, včetně např. znalosti aktivačních energií pro acetylaci do různých poloh, napomůže odhalit závislost selektivity acetylací na podmínkách reakce i použitém acetylačním činidlu.

Přestože je obecný mechanismus acetylace sacharidů acetylchloridem nebo acetanhydridem v pyridinu znám, nejsou známy podrobnosti o tranzitních stavech ani termochemická data pro tyto reakce, které by umožnily selektivitu reakce nějakým způsobem kvantifikovat. Obě otázky by však měly být zodpověditelné na základě kvantově-chemického modelu uvedené reakce. Práce se proto zabývá *ab initio* výpočtem reakčního mechanismu acetylace, avšak pro zjednodušení je jako modelová látka pro sacharid použit methanol, pro který trvají výpočty o několik řádů méně.

Detailně jsou studovány tranzitní stavy a další stacionární body na reakční koordinátě včetně relevantních energetických charakteristik, které umožní kompletní posouzení studované reakce. Nalezené tranzitní stavy spolu s vypracovanou metodikou napomohou podstatným způsobem studiu mechanismu acetylace samotných sacharidů a očekává se, že výsledky budou mít praktický význam při syntézách sacharidů a jejich derivátů.

## Konjugáty D-glukosaminu se steroidními a žlučovými kyselinami spojené amidovou vazbou

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

Žlučové kyseliny jsou konečným produktem metabolismu cholesterolu v játrech. Jsou známé svými zajímavými chemickými i fyzikálními vlastnostmi. Při jejich tvorbě projde steroidní skelet několika hydroxylacemi, následovanými ztrátou části bočního řetězce čímž vzniká primární žlučová kyselina.

Cílem této práce je syntéza konjugátů D-glukosaminu a žlučových kyselin, spojených amidickou vazbou, na kterých bychom mohli zkoumat m.j. jejich gelotvorné účinky a srovnat je s popsanou sloučeninou- konjugátem kyseliny cholové s 5-amino-1,10-fenanthrolinem.

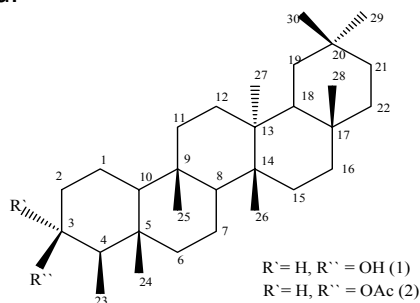
Reakcí chráněné kyseliny lithocholové (3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\beta$ -cholan-24-ová kyselina) a dehydrocholové (3,7,12-trioxo-5 $\beta$ -cholan-24-ová kyselina) s oxalylchloridem v benzenu vznikne chlorid příslušné kyseliny, jeho další reakcí s tetraacetylovaným glukosaminem v pyridinu vzniká žádaný amid, který je nakonec v případě chráněného steroidu převeden na derivát žlučové kyseliny s volnou hydroxyskupinou.

Pro acetylaci D-glukosaminu byl optimalizována nově vypracovaná jednokroková metoda typu „Eintopf“.

## Isolace a struktura 3 $\beta$ -friedelinolu z *Pedilanthus tithymaloides*

Autor: Lucie Vaníčková  
Ročník: 4.  
Ústav: Ústav chemie přírodních látek VŠCHT Praha; Ústav chemie, Fakulta věd a technologie, Nová universita v Lisabonu  
Školitel: Pedro Abreu

*Pedilanthus tithymaloides* (L.) Piot. (Euphorbiaceae) je nízký tropický americký keř s širokým rozsahem léčivých vlastností jako např. dávivé, protizánětlivé, antibiotické, antiseptické, antihemoragické, antivirální, abortivní. Ze 70% tinktury *P. tithymaloides* sbíraného na Kubě, jsme isolovali triterpenoid 3 $\beta$ -friedelinol **1**, který byl charakterizován rozsáhlými spektroskopickými metodami jako IR, mono- a bidimenzionální NMR (HMQC, HMBC, NOESY), a hmotnostní spektrometrií. Spekrální data sloučeniny **1**, stejně jako jejího acetylovaného derivátu **2**, se velmi dobře shodovaly s již dříve publikovanými daty 3 $\beta$ -friedelinolu a 3 $\beta$ -acetylfriedelanu.



## Syntéza cholesterylhemisuberátu

Autor: Petr Vinš  
Ročník: 4.  
Ústav: Ústav chemie přírodních látek  
Školitel: Prof. RNDr. Pavel Drašar, DSc.

Cílem práce je syntéza cholesterylhemisuberátu z  $\alpha$ -anhydridu kyseliny suberové, který je také nutné předem připravit. Jako výchozí látku jsem použil krystalickou kyselinu suberovou, kterou jsem nechal reagovat s acetanhydridem.

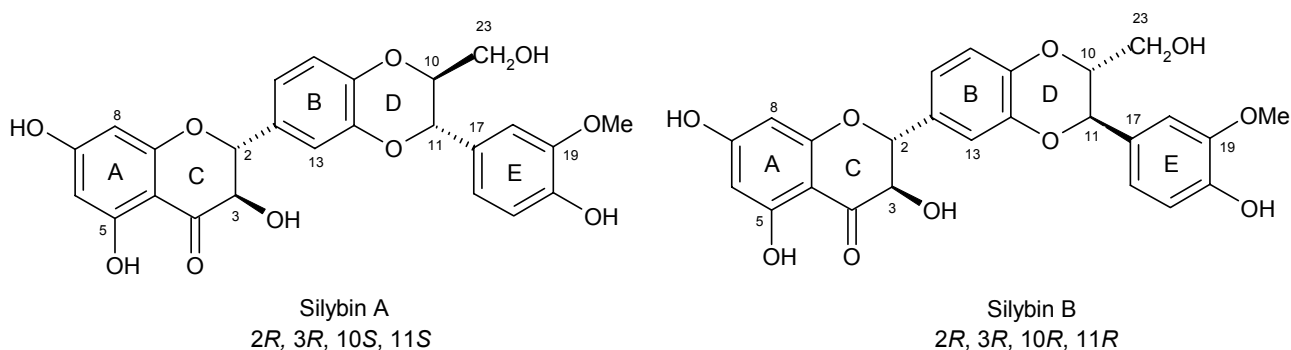
Získaný anhydrid jsem nasadil do reakce s cholesterolem a nechal míchat několik dní. Reakční směs obsahující cholesterol jsem separoval na sloupci silikagelu. Tento způsob přípravy se od postupu ve zveřejněné literatuře liší použitými rozpouštědly. Bod tání našeho produktu je mírně nižší než hodnota uvedená v literatuře. Jako identifikační techniku používám NMR spektrometrii, pro orientační určení pak chromatografii na tenké vrstvě.

Druhá metoda přípravy téhož produktu spočívá v ochránění jedné karboxylové skupiny kyseliny suberové. Vycházel jsem opět z anhydridu kyseliny suberové, který jsem nechal reagovat s trichloroethanolem. Dalším krokem je použití získaného trichloroethylhemisuberátu pro reakci s cholesterolem. Následuje odstranění chránicí skupiny práškovým zinkem v kyselém prostředí. Separace produktů je prováděna na sloupci silikagelu. Bude presentováno srovnání produktů získaných oběma metodami.

## Selektivní esterifikace silybinu

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

Silybin je hlavní složkou komplexu flavanolignanů, silymarinu, získávaného extrakcí ze semen bodláku *Silybum marianum* (ostropestřec mariánský). Silybin je tvořen směsí dvou diastereoisomerů A a B. Chemie silybinu je běžně prováděna se směsí dvou diastereoisomerů. Silybin se velmi špatně rozpouští v nepolárních i v polárních rozpouštědlech, což způsobuje nízkou biodostupnost. Lipofilní deriváty silybinu mají lepší antioxidační účinky v membránových strukturách a jiných lipidických kompartmentech. Proto byly vybrány mastné kyseliny pro esterifikaci silybinu. Silybin byl acylován volnou kyselinou palmitovou za katalýzy DCC a jejím chloridem v přítomnosti  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ . Byl studován vliv reakčních podmínek na polohu a počet vznikajících esterů.



## Studium přípravy 3-galaktopyranosyl-2-oxo-propylfosfonátu

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

V živých organizmech je řada životně důležitých pochodů spojena s nukleotidy. Glykosyl nukleotidy slouží i jako donory monosacharidů při enzymové synthese oligosacharidových epitopů glykokonjugátů. Z hlediska hledání potenciálních inhibitorů glykosyltransferas není ale hydrolyzovatelná fosfátová skupina v molekule inhibitoru příliš výhodná; nahrazením kyslíku esterové skupiny methylenovým můstkem vznikají isosterní fosfonáty, které jsou vůči ataku fosfatas rezistentní.

Cílem mé práce je připravit titulní fosfonát, který po kaplinku s uridinmonofosfátem poskytne cílový potenciální inhibitor galaktosyltransferas. Výchozí látkou byl 1-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-galaktopyranosyl)propan-2-on připravený acetylací produktu reakce D-galaktosy s pentan-2,4-dionem. Následná bromace poskytla 1-brom-3-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-galaktopyranosyl)propan-2-on, jehož karbonylová skupina byla chráněna převedením na fenylsulfonylhydrazon. Klíčovým krokem synthesy byla Michaelisova-Arbuzovova reakce s triethyl-fosfitem. Vedle žádaného diethyl-2-fenylsulfonylhydrazono-3-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-galaktopyranosyl)propylfosfonátu byly izolovány další produkty, které byly identifikovány pomocí spektrálních metod.