



**VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
V PRAZE**

Konference

KVASNÁ CHEMIE A BIOINŽENÝRSTVÍ 2011

8. seminář

Pivovarství a kvasné technologie 2011

2. seminář

Environmentální biotechnologie 2011

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství

7. a 8. dubna 2011



**VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
V PRAZE**

Sborník souhrnů a plných textů příspěvků

Konference

KVASNÁ CHEMIE A BIOINŽENÝRSTVÍ 2011

8. seminář

Pivovarství a kvasné technologie 2011

2. seminář

Environmentální biotechnologie 2011

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství

7. a 8. dubna 2011

Pořádající instituce:

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství

Fakulta potravinářské a biochemické technologie
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

Odborná skupina Kvasná chemie a biotechnologie

Česká společnost chemická

Sponzoři a spolupracující společnosti:

ROCHE, s.r.o.

Budějovický Budvar, n.p.
Heineken Česká republika, a.s.
Měšťanský pivovar v Poličce, a.s.
Pivovar Svijany, a.s.
Pivovar Kácov, s.r.o.
Pivovar Nymburk, s.r.o.
Pivovary Staropramen, a.s.

Přípravný a organizační výbor:

Předseda: Ing. Jaromír Fiala, Ph.D., e-mail: jaromir.fiala@vscht.cz

Členové: Nikol Krmencíková, e-mail: nikol.krmencikova@vscht.cz

Rudolf Jung, e-mail: rudolf.jung@vscht.cz

Ing. Olga Schreiberová, e-mail: olga.schreiberova@vscht.cz

prof. Ing. Karel Melzoch, CSc., e-mail: karel.melzoch@vscht.cz

Editor: Jaromír Fiala

Publikace neprošla jazykovou ani odbornou úpravou. Za obsah příspěvků odpovídají autoři.

© Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2011

ISBN 978-80-7080-796-5

Program konference

KVASNÁ CHEMIE A BIOINŽENÝRSTVÍ 2011

Čtvrtek 7. dubna 2011

Konferenční centrum VŠCHT Praha, kolej Sázava,
areál vysokoškolských kolejí Praha 4 – Kunratice



**VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
V PRAZE**

8:00 – 9:00 Registrace účastníků

Přednášková sekce – plenární zasedání sál B+C

9:00 – 9:10 Fiala J.: **Zahájení konference**

9:10 – 9:30 Basařová G.: **Porovnání historických a současných výrobních a laboratorních zařízení**

9:30 – 9:50 Dostálek P.: **Vývoj polyamidového sorbentu pro zvýšení koloidní stability piva**

9:50 – 10:10 Čejková A.: **Extrémofilní mikroorganismy – nový potenciál pro biotechnologie**

10:10 – 10:20 Šógorková J., Rimpelová S., Ruml T.: **Biokompatibilní materiály pro kožní náhrady**

10:20 – 10:30 Linhová M., Lipovský J., Fribert P., Patáková P., Rychtera M., Melzoch K.: **Průtoková cytometrie jako nástroj pro hodnocení fyziologického stavu klostridií**

10:30 – 10:40 Štěpánková B., Zídková L., Čejková A.: **Stanovení mikroorganismů využívajících vybraný kontaminant v reálných matricích**

10:40 – 10:50 Petříková A., Vohánka J., Fiala J.: **Detekce kontaminace ječmene a sladu plísněmi metodou PCR**

10:50 – 11:10 *Přestávka*

8. seminář – Pivovarství a kvasné technologie 2011

sál B+C

11:10 – 11:20	Švejdrová L., Štěrbá K., Karabín M.: Vliv oxidu siřičitého na tvorbu karbonylových sloučenin piva
11:20 – 11:30	Luhový R., Šiříšťová L.: Membránové lipidy termofilních bakterií
11:30 – 11:40	Husárková M., Lipovský J., Patáková P.: Vývoj biotechnologického procesu produkce rozpouštědel
11:40 – 11:50	Podešvová P., Linhová M., Patáková P.: Produkce 1-butanolu z řepy cukrovky
11:50 – 12:00	Lisová I., Horáčková Š., Plocková M.: Enkapsulace probiotik
12:00 – 12:10	Bittner M., Volšička J., Šiříšťová L., Brányik T.: Tvorba biofilmu a mikrobiální kontaminace v pivovarské výrobě
12:10 – 12:20	Volšička J., Bittner M., Šiříšťová L.: Adheze mikrobiálních kontaminantů piva na pevné povrchy
12:20 – 12:30	Kotlíková B., Gabriel P., Fiala J.: Optimalizace postupů stabilizace piva
12:30 – 12:40	Cejnar R., Kučera J., Dostálek P.: Stanovení křemíku v pivech a jeho bilance během pivovarského procesu

12:40 – 14:00 **Přestávka na oběd**

2. seminář - Environmentální biotechnologie 2011

sál A

11:10 – 11:20	Polová M., Čejková A.: Surfaktanty a biodegradace hydrofobních látek
11:20 – 11:30	Hedbávná P., Schreiberová O., Masák J.: Vliv povrchově aktivních látek na tvorbu a stabilitu biofilmů
11:30 – 11:40	Brož J., Vaněk T., Páca J.: Biofiltrace směsí par hydrofobních a hydrofilních sloučenin
11:40 – 11:50	Hanková M., Vaněk T., Halecký M.: Analýza intermediátů a biomasy v průběhu biofiltračních procesů
11:50 – 12:00	Homolová L., Jirků V.: Biologický účinek nanočástic železa
12:00 – 12:10	Mlsová V., Slaninová J., Macková M.: Protinádorové účinky antimikrobiálních peptidů izolovaných z hmyzu
12:10 – 12:20	Kvasnička M., Drašar P.: Syntéza a studium funkcionalizovaných steroidních stužek
12:20 – 12:30	Rousová J., Páca J., Halecký M.: Biofiltrace par směsí uhlovodíků
12:30 – 12:40	Karlová P., Halecký M., Páca J.: Mikrobiální degradace nitroaromatických sloučenin

12:40 – 14:00 **Přestávka na oběd**

8. seminář – Pivovarství a kvasné technologie 2011 sál B+C

14:00 – 14:10	Baszczyński M., Novák P., Brányik T., Růžička M., Zedníková M., Drahoš J.: Sledování stability a struktury pěny modelových roztoků
14:10 – 14:20	Novák P., Baszczyński M., Brányik T., Růžička M., Zedníková M., Drahoš J.: Vliv stěn sklenice na stabilitu pивní pěny
14:20 – 14:30	Lipovský J., Linhová M., Fribert P., Patáková P., Rychtera M., Melzoch K.: Kontinuální produkce biobutanolu v reaktoru s volnými buňkami
14:30 – 14:40	Fribert P., Lipovský J., Linhová M., Patáková P., Rychtera M., Melzoch K.: Separace butanolu z médií po aceton-butanol-ethanolové fermentaci
14:40 – 14:50	Kadlec J., Fribert P., Truhlář P., Rychtera M.: Hodnocení vybraných metod separace butanolu z fermentačních médií
14:50 – 15:00	Jaisamut K., Patáková P., Rychtera M.: Application of commercial cellulolytic enzymes on pretreated lignocellulosic material in comparison with their effect on cellulose
15:00 – 15:10	Káčerová S., Raich I.: Struktura a vlastnosti substituovaných alkyl-6-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)hexanoátů jakožto látek zesilujících transdermální penetraci
15:10 – 15:20	Hudcová T., Jelínek L., Karabín M., Dostálek P.: Využití xanthohumolu ve funkčních potravinách a potravinových doplňcích
15:20 – 15:30	Jelínek L., Kinčl T., Karabín M.: Možnosti zvýšení obsahu xanthohumolu v pivech

2. seminář - Environmentální biotechnologie 2011 sál A

14:00 – 14:10	Smetková M., Kolouchová I.: Ovlivnění tvorby a stability biofilmu stilbeny
14:10 – 14:20	Kosová B., Jirků V.: Produkce biosurfaktantu na bázi rhamnolipidu
14:20 – 14:30	Soor D., Lipovová P., Spiwok V.: Modifikace nukleas pro zlepšení jejich farmakokinetických vlastností
14:30 – 14:40	Pospíšilová D., Masák J.: Modifikace povrchových vlastností buněk působením antimikrobních látek
14:40 – 14:50	Kroupa T., Pospíšilová D., Masák J.: Vliv potenciálních inhibitorů mikrobiální adheze na hydrofobitu buněčného povrchu
14:50 – 15:00	Zelenková T., Polová M., Čejková A.: Studium metabolického potenciálu rodu <i>Rhodococcus</i>
15:00 – 15:10	Humhal T., Maršálková B., Brányik T.: Jednobuněčné řasy jako alternativní zdroj energie I.
15:10 – 15:20	Procházková, G., Brányik, T.: Separční metody používané pro sklizení mikroskopických řas

15:40 – 16:00

Přestávka

Prezentace sponzorujících společností – sál B+C

16:00 – 17:00

Prezentace sponzorujících společností

17:00 – 17:30

Diskuse

17:30

Zakončení 1. dne konference

Pátek 8. dubna 2011 - Ústav kvasné chemie a bioinženýrství,
VŠCHT Praha - budova A, Technická 5, Praha 6, 1. patro - č.dv. 111

**Možnost návštěvy vybraných laboratoří a technologické haly
ÚKCHB** - Sraz účastníků 10:00 hodin před knihovnou ÚKCHB

**Souhrny
a plné texty příspěvků**

Biokompatibilní materiály pro kožní náhrady

Šógorková J., Rimpelová S., Ruml T.

Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha

Byl testován vliv změn povrchových vlastností polyetylénu modifikovaného Ar plazmatem a roubovaného biomolekulami na adhezi a proliferaci myších embryonálních fibroblastů (NIH 3T3) a na produkci a lokalizaci adhezivních proteinů talinu a vinkulinu. Vysokodenzní a nízkodenzní polyetylenové matrice byly modifikovány Ar plazmatem a byl na ně navázán 1,4-bifenyldithiol, zlaté nanočástice nebo peptid CGGGGRGDSPGRGD s minimální adhezivní doménou, která se specificky váže na integrinové receptory na buněčném povrchu. Na matrici byla fluorescenční mikroskopií porovnána morfologie a evaluován počet buněk NIH 3T3. Imunochemicky byly detekovány produkováné adhezivní proteiny vinkulin a talin a lokalizace talinu v buňkách byla sledována imunofluorescenční mikroskopií.

Bylo prokázáno, že úprava polyetylénu Ar plazmatem, a zejména přítomnost peptidu obsahujícího sekvenci RGD, měla pozitivní vliv na adhezi, proliferaci a homogenitu růstu buněk NIH 3T3. Rovnoměrná distribuce talinu v cytoplazmě a mírně zvýšená produkce talinu po 48 h kultivaci NIH 3T3 potvrdila biokompatibilitu takto upravených maticí.

Průtoková cytometrie jako nástroj pro hodnocení viability klostridií

Linhová M., Lipovský J., Fribert P., Patáková P., Rychtera M., Melzoch K.

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Solventogenní druhy rodu *Clostridium* během heterofermentativního metabolismu produkují rozpouštědla jako jsou butanol, aceton, ethanol a některé druhy také isopropanol. Mezi solventogenní druhy klostridií patří mimo jiné také *C. pasteurianum* a *C. beijerinckii*, které byli v této práci použity pro produkci majoritního produktu 1-butanolu během aceton-butanol-ethanolové (ABE) fermentace. Tento proces je typický počáteční produkcí organických kyselin s následující tvorbou rozpouštědel, kdy některé kmeny vytvořené kyseliny částečně reutilizují zatímco u jiných kmenů tento jev prokázán nebyl. Obecně převládá názor, že určitá koncentrace kyselin v médiu je ovšem nutnou podmínkou pro změnu metabolismu na solventogenní. Kyseliny a rozpouštědla obsažené v médiu ovlivňují fyziologický stav populace a dochází k morfologickým změnám v podobě sporulace.

Pravděpodobně nejpoužívanějším popisným faktorem fyziologického stavu je viabilita, kterou jsme si také v této práci vybrali pro sledování procesu výroby 1-butanolu klostridiemi. Pojem viabilita používaný v této práci slouží pro zjednodušení a jedná se o buňky se zachovaným membránovým potenciálem. Pomocí průtokové cytometrie jsme sledovali viabilitu populace značené bis-((1,3-dibutylbarbiturovou kyselinou) trimethin) oxonolem (DiBAC₄(3)). Buňky ve formě spor vykovaly zvýšenou intenzitu fluorescence DiBAC₄(3) a jako neaktivní buněčné formy jsme je tedy řadili mezi neviabilní populaci. Po optimalizaci metody značení DiBAC₄(3) byly provedeny fermentační pokusy v 5 L bioreaktoru. Současně byly stanoveny produkty metabolismu pomocí HPLC, byl sledován růst biomasy pomocí měření optické density a spotřeba glukosy jako zdroje uhlíku a energie na HPLC. Při kontrolní kultivaci *C. pasteurianum* v bioreaktoru, který byl zaočkován neaktivními sporami bylo podle předpokladu dosaženo nejprve viability pouze 5 %, která se postupně zvyšovala až k 85 %. Poté došlo k vyčerpání uhlíkatého zdroje energie a nahromadění butanolu v médiu a viabilita se začala snižovat až k 8 %, kdy byla kultivace ukončena. Nejvyšší koncentrace 1-butanolu (7,3 g.l⁻¹) bylo dosaženo na konci exponenciální fáze růstu, kdy viabilita kultury dosahovala stále 80 %. Vyvinutá metoda pro sledování fyziologického stavu klostridií byla shledána jako vhodná k monitorování stavu populace během produkce rozpouštědel.

Stanovení mikroorganismů využívajících vybraný kontaminant v reálných maticích

Štěpánková B.¹, Zídková L.², Čejková A.¹

¹Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

²Dekonta, a.s.

Cílem této práce byl výběr, ověření a zpracování standardního operačního postupu robustní metody pro stanovení mikroorganismů degradujících ropné látky (RL). Tato práce popisuje současně používané metody pro stanovení počtu mikroorganismů schopných degradace ropných látek. V experimentální části jsou shrnuty výsledky hodnocení testů s modelovým mikroorganismem s prokázanou biodegradační aktivitou vůči ropným látkám (*Acinetobacter calcoaceticus* 147) rostoucím na třech typech substrátů (nafta, uhlovodíková frakce C18 a n-decylalkohol). Dále je popsáno rozšíření aplikace této metodiky na reálně kontaminované zeminy. Biodegradační účinnost u dvou kmenů byla dále ověřena modelovým biodegradačním testem na vybraných substrátech. V rámci této práce byl pro biotechnologickou laboratoř společnosti Dekonta vypracován standardní operační postup SOP 06.0.34 Stanovení mikroorganismů využívajících ropné látky metodou „Most Probable Number“.

Detekce kontaminace ječmene a sladu plísněmi metodou PCR

Petříková A.¹, Vohánka J.², Fiala J.¹

¹Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

²Roche, s.r.o.

Cílem této práce je identifikace plísňové kontaminace a její kvantifikace v průběhu sladovacího procesu. Jako zkoumaný materiál byly použity ječmeny a slady dodané z běžného provozu a ječmen pěstovaný pouze pro vědecké účely, u kterého bylo provedeno sladování v mikrosladovně.

Pro analýzu byla použita metoda polymerasové řetězové reakce. Jedná se o molekulárně biologickou metodu, která je schopna nasyntetizovat molekulu DNA *in vitro*. Stanovení jednotlivých vzorků probíhalo v přístroji LightCycler® 2.0 Instrument od firmy ROCHE.

U analyzovaných vzorků byla identifikována nejrozšířenější plísní na sladovnickém ječmeni i na sladu plíseň rodu *Fusarium*. Byly identifikovány druhy *Fusarium nivale*, *Fusarium cerealis*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium sporotrichoides*, *Fusarium poae* a *Fusarium oxysporum*. V průběhu sladovacího procesu došlo u většiny vzorků ke snížení této kontaminace. Na speciálních sladech byly nalezeny převážně plísně skladištní, nejčastěji rod *Penicillium*.

Vliv oxidu siřičitého na tvorbu karbonylových sloučenin piva

Švejdová L., Štěrba K., Karabín M.

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Tato práce se zabývá tvorbou a stanovením karbonylových sloučenin a jejich aduktů s oxidem siřičitým v pivu a meziproduktech jeho výroby.

Cílem první části byla optimalizace metody stanovení karbonylových sloučenin v pivu a meziproduktech jeho výroby pomocí HS/SPME - GC/MS. Tato metoda byla následně využita pro monitorování změn obsahů volných a vázaných karbonylových sloučenin během kvašení várek lišících se vybranými technologickými parametry. Na základě získaných dat byl zhodnocen vliv jednotlivých parametrů na množství vzniklých aduktů a navržena možná východiska pro minimalizaci obsahu volných a vázaných karbonylových sloučenin

v čerstvém pivu.

V poslední části byl sledován vliv podmínek skladování (teplota, obsah kyslíku a přítomnost světla) na intenzitu rozkladu aduktů, respektive nárůst koncentrace karbonylových sloučenin během skladování. Byl potvrzen zcela zásadní vliv teploty skladování na zvyšování obsahů senzoričky negativních karbonylových sloučenin a tím i na snižování senzoričky stability skladovaného piva.

Membránové lipidy termofilních bakterií

Luhový R., Šíříšťová L.

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Součástí cytoplazmatické membrány termofilních bakterií náležejících k rodu *Alicyclobacillus* jsou unikátní ω -cyklické mastné kyseliny, jejichž význam nebyl dosud prokázán. Hlavním cílem předložené práce bylo zjistit, zda i jiné termofilní kmeny jsou schopny z vhodných prekurzorů syntetizovat tyto unikátní struktury a posoudit, jakým způsobem jejich přítomnost ovlivňuje lipidové složení a fluiditu cytoplazmatické membrány zkoumaných kmenů. Vybrané kmeny *Geobacillus stearothermophilus* CCM 2062 a *Meiothermus ruber* CCM 4212 byly kultivovány s přidavkem cyklopropan-, cyklobutan-, cyklopentan- a cyklohexankarboxylové kyseliny. GC-MS analýza methyl- a pikolinylní esterů mastných kyselin prokázala, že oba kmeny jsou schopny syntetizovat ω -cyklické mastné kyseliny, pokud je dostupný vhodný prekurzor. Dále byly vyhodnoceny změny v celkovém složení mastných kyselin, vliv přítomnosti ω -cyklických mastných kyselin na růst studovaných kmenů za rozdílných kultivačních teplot a pH a též vliv na membránovou fluiditu, která byla měřena s využitím 1,6-difenyl-1,3,5-hexatrien membránové sondy.

Vývoj biotechnologického procesu produkce rozpouštědel

Husárková M., Lipovský J., Patáková P.

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Produkce butanolu pomocí aceton-butanolového kvašení je dvoufázový vsádkový proces a využívají se při něm různé druhy bakterií rodu *Clostridium*. Možností, jak zefektivnit tento proces a zlepšit výtěžnost biobutanolu produkovaného kvasným způsobem, je dvoustupňový systém. Tento postup se opírá o dva různé druhy mikroorganismů, kdy první z nich, např. *C. tyrobutyricum*, konvertuje v prvním stupni glukosu téměř výhradně na kyselinu máselnou. Zředěné medium s touto kyselinou se po obohacení glukosou použije pro druhý stupeň, kde se pomocí bakterií například *C. beijerinckii* či *C. pasteurianum* přetváří kyselina máselná na cenný produkt - butanol. Ve své práci jsem u prvního stupně dosáhla nejvyšší výtěžnosti kyseliny máselné (37%) při udržování pH na hodnotě 6,3. Hodnota pH významně ovlivňuje tento proces – při nižších hodnotách pH se mění poměr produkovaných kyselin ve prospěch kyseliny mléčné na úkor kyseliny máselné. Dvoustupňový systém lze provádět obdobně i s využitím jednoho produkčního mikroorganismu, úspěšně v této práci bylo odzkoušeno použití bakterie *C. saccharoperbutylacetonicum*, kdy kultivace v prvním stupni probíhala za regulace pH a ve druhém stupni, již bez pH regulace se dosáhlo 6,8 g/l butanolu (výtěžnost 23%).

Produkce 1-butanolu z řepy cukrovky

Podešvová P., Linhová M., Patáková P.

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Cílem této práce bylo ověřit a vyhodnotit vlivy různých faktorů na produkci butanolu z řepné šťávy u bakterií *Clostridium beijerinckii* a *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* a v návaznosti na tyto výsledky ověřit možnost tvorby inokula v aerobním prostředí pro poloprovozní proces. Dále byly provedeny vsádkové a přítokované kultivace s *C. beijerinckii* za účelem zjištění, do jaké míry bude daná bakterie na řepné šťávě růst a produkovat rozpouštědla. Experimenty zkoumající vliv počátečního pH, komplexního zdroje dusíku, koncentrace zdroje dusíku, koncentrace železnatých iontů, optimálního množství inokula, teploty, normální atmosféry a přídavku odpěňovacího činidla, probíhaly v rámci baňkových pokusů a byla v nich vyhodnocována výtěžnost butanolu ze spotřebované sacharosy. Možnost tvorby inokula pro poloprovozní proces za přístupu vzdušného kyslíku byla potvrzena pouze pro bakterii *C. saccharoperbutylacetonicum*. Ve vsádkové kultivaci bez pH regulace bylo dosaženo maximální koncentrace 11,6 g/l butanolu a výtěžnosti rozpouštědel 35 %, při kultivaci s regulací pH bylo získáno 9,4 g/l kyseliny máselné. U některých vsádkových a přítokovaných kultivací nedošlo k přechodu kultury z kyselinotvorné do rozpouštědlové fáze z důvodu, který se nepodařilo objasnit.

Enkapsulace probiotik

Lisová I., Horáčková Š., Plocková M.

Ústav technologie mléka a tuků, VŠCHT Praha

Pomocí emulzní enkapsulace s využitím mléčné bílkovinné matrice byly připraveny mikrokapsle s obsahem komerčních probiotických kmenů *Lactobacillus casei* Lafti L-26 a *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12. Mikrokapsle byly charakterizovány z hlediska velikosti, množství enkapsulovaných probiotických buněk a ochranného účinku vůči podmínkám gastrointestinálního traktu člověka. Dále byl prokázán pozitivní vliv zvýšené rychlosti míchání a přídavku 0,5 % hm. lecithinu na zmenšení velikosti mikrokapslí. Chování enkapsulovaných a neenkapsulovaných probiotik v simulovaném prostředí gastrointestinálního traktu člověka v oblasti žaludku, dvanáctníku a tenkého střeva prokázalo ochranný účinek mikrokapslí vůči působení nízkého pH, žlučových solí a pankreatických šťáv. Závěrem byly mikrokapsle s *B. animalis* subsp. *lactis* Bb12 úspěšně aplikovány do jogurtu, kde bylo tímto způsobem dosaženo legislativou požadovaného počtu životaschopných bifidobakterií po dobu skladování 28 dní.

Adheze mikrobiálních kontaminantů piva na pevné povrchy

Volšička J., Bittner M., Šiříšř'ová L.

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Mezi obávané kontaminující mikroorganismy v pivovarství se v současné době řadí striktně anaerobní gram-negativní bakterie čeledi *Veillonellaceae*, zejména zástupci rodů *Pectinatus* a *Megasphaera*. Tyto bakterie pravděpodobně dokážou dlouhodobě přežívat v pivovarském prostředí díky své schopnosti vytvářet, nebo být součástí biofilmů.

V práci byly zkoumány povrchové vlastnosti vybraných materiálů a vlastnosti buněčného povrchu pěti kmenů pivovarských kontaminantů. Cílem bylo určit, v kterých místech pivovarů lze předpokládat zvýšené riziko tvorby biofilmů. Při stanoveních byl aplikován termodynamický model, popisující adhezi buněk na pevný nosič z fyzikálně-chemického hlediska. Na základě uvedeného modelu bylo zjištěno, že u kmene *Lactobacillus brevis*, zástupce bakterií mléčného kvašení, lze očekávat mnohem vyšší ochotu k adhezi než v případě čtyř kmenů z čeledi *Veillonellaceae*. Stejným způsobem bylo vyhodnoceno také riziko buněčné adheze na různé pevné materiály a mazadla z pivovarských provozů.

V závěrečné části práce byly provedeny adhezní testy, při kterých byla sledována adheze bakterií kmene *Pectinatus frisingensis* DSM 20465 na modelové nosiče (sklo s/bez povrchové modifikace).

Optimalizace postupů stabilizace piva

Kotlíková B.¹, Gabriel P.², Fiala J.¹

¹Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

²Katedra chemické fyziky a optiky, Matematicko-fyzikální fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Cílem práce bylo navrhnout a zavést do běžného pivovarského provozu nový stabilizační postup. V první části práce byly porovnány adsorpční účinky několika stabilizačních přípravků v laboratorním měřítku. Z nich byly vybrány dva, které nejvíce vyhovovaly podmínkám a požadavkům pivovaru a tyto byly následně aplikovány v provozu.

Vzorky pív ošetřené těmito prostředky byly testovány titračními a šokovacími testy. Výsledky titračních testů byly použity pro předpověď koloidní stability. Aplikací nového stabilizačního postupu byla výrazně prodloužena trvanlivost pív v porovnání se vzorky stabilizovanými původním postupem.

Následně bylo podle požadavků pivovaru zavedeno v provozu zařízení sloužící k ochlazení piva těsně před filtrem, tzv. dochlazovač. Účelem tohoto zařízení bylo snížit množství používaných stabilizačních prostředků a tím i nákladů na ně. V návaznosti na testy s dochlazovačem byl testován rovněž vliv teploty a doby působení stabilizačních prostředků na obsah zákalotvorných prekurzorů.

Stanovení křemíku v pivech a jeho balance během pivovarského procesu

Cejnar R.¹, Kučera J.², Dostálek P.¹

¹Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

²Ústav jaderné fyziky AV ČR, v.v.i.

Křemík je důležitým esenciálním stopovým prvkem. Nedostatek křemíku je nejčastěji spojován s úbytkem složek pojivové tkáně, jako jsou glykosaminoglykany, kolagen a elastin. Nejsnáze vstřebatelnou formou křemíku je kyselina ortokřemičitá.

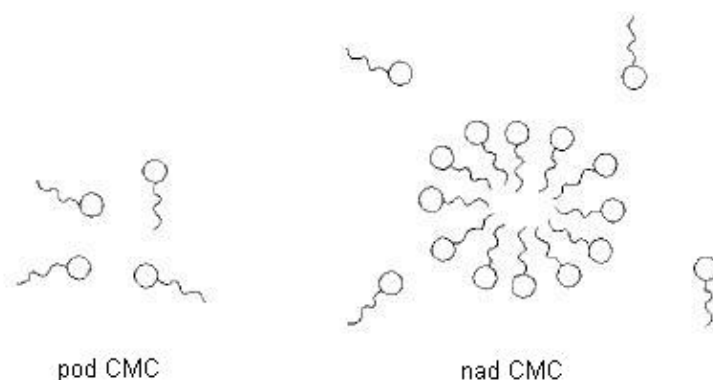
Rostlinné produkty jsou lepším zdrojem křemíku než živočišné, protože určité rostliny, zejména obilniny, akumulují křemík. Zejména pivo je dobrým zdrojem biodostupného křemíku. Při jeho výrobě se používá ječný slad, ze kterého se do sladiny uvolňuje kyselina ortokřemičitá.

Koncentrace křemíku v pivě se pohybuje v oblasti desítek mg/l a závisí na použitých surovinách, jejich množství a technologii výroby. Obecně platí, že obsah křemíku v pivě roste s původní koncentrací mladiny. Jednotlivé odrůdy ječmene se však obsahy křemíku mohou významně lišit. Velmi podstatnou roli hraje rmutovací postup. Bylo zjištěno, že v průběhu dekokčního rmutování dochází k intenzivnějšímu uvolňování křemíku do roztoku než v případě infuze. V dalších krocích výroby, zejména ve studeném bloku, dochází již jen ke ztrátám křemíku a koncentrace křemíku v pivě je ve srovnání se sladinou zhruba poloviční.

Surfaktanty a biodegradace hydrofobních látek

podle jejího chování ve vodném prostředí, je možné surfaktanty dělit na dvě skupiny: ionogenní (ve vodném prostředí disociují) a neionogenní (ve vodném prostředí nedisociují). Ionogenní surfaktanty lze dále dělit na aniontové, které ve vodě tvoří anionty (např. karboxyláty, sulfonáty), kationtové tvořící anionty (např. amoniové soli) a amfoterní, jejichž náboj závisí na pH. U neionogenních povrchově aktivních látek je jejich rozpustnost zajištěna přítomností polárních skupin (např. ethoxyláty).

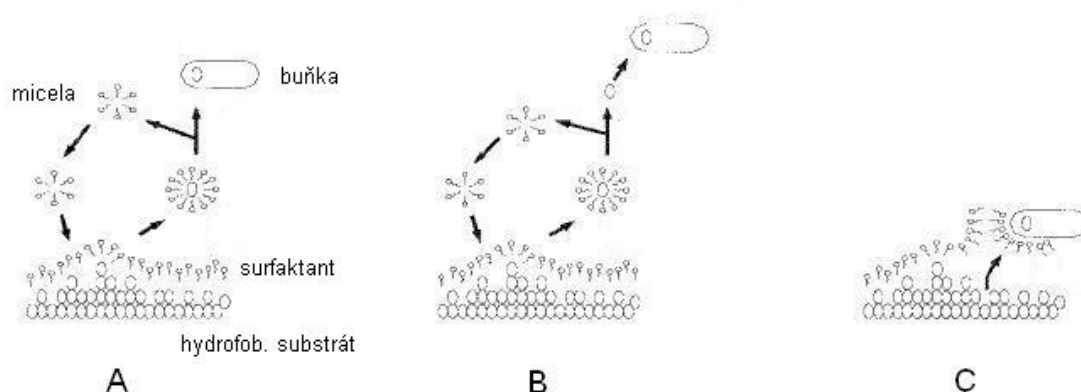
Ve vodných rozpouštědlech tvoří surfaktanty za nízké koncentrace pravé roztoky, při vyšších koncentracích se shlukují do koloidních útvarů zvaných micely (4, 5) (viz obr. 2). Hraniční koncentrace mezi těmito dvěma jevy se nazývá kritická micelární koncentrace (CMC, critical micellar concentration). Hodnoty CMC se pro různé povrchově aktivní látky pohybují zpravidla v rozmezí koncentrací řádově $10^{-5} - 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ (4).



Obr. 2.: Formy výskytu surfaktantu ve vodném prostředí: pod CMC – pravý roztok, nad CMC – micela. CMC – kritická micelární koncentrace (3).

Zvýšení zdánlivé rozpustnosti a biologické dostupnosti hydrofobních substrátů je spojeno právě s tvorbou micel, v jejichž (hydrofobním) jádru dojde k rozpuštění dané látky (4). Tento celek působí navenek hydrofilně a tak zvyšuje zdánlivou rozpustnost hydrofobní látky a také zpřístupňuje daný substrát cílovému mikroorganismu.

Byly popsány tři různé mechanismy buněčného uptake hydrofobního substrátu (konkrétně u polycyklických aromatických uhlovodíků) v souvislosti s použitím surfaktantů (viz obr. 3). V prvním případě dojde k rozpuštění hydrofobního substrátu v micelle tvořené molekulami surfaktantu, čímž dojde k jeho solubilizaci. Hydrofobní substrát je pak z micely vstřebán přímo do buňky. V druhém případě po rozpuštění v micelle následuje mezikrok, při kterém dojde k uvolnění substrátu z micely do vodného prostředí a pak následuje uptake přímo z vodného prostředí. Ve třetím případě je buněčný uptake zprostředkován přímým kontaktem buňka-surfaktant-substrát.



Obr. 3.: Mechanismy buněčného uptake hydrofobního substrátu s využitím surfaktantu (**A:** přímý uptake z micely, **B:** uptake z vodného prostředí po uvolnění z micely, **C:** uptake zprostředkovaný přímým kontaktem buňka-surfaktant-substrát) (3).

Přestože existuje mnoho publikací o vlivu surfaktantů na zlepšení biologické dostupnosti hydrofobních polutantů (1, 2, 4, 6), informací o vlivu těchto látek na životaschopnost mikrobiální populace není mnoho (7). Průmyslově využívané surfaktanty přitom mohou vykazovat silně toxické účinky vůči přítomným živým organismům. Pozitivní vliv surfaktantu na degradovatelnost hydrofobních substrátů může tak být vyvážen negativním vlivem na růst a životaschopnost mikrobiální populace.

Použitá literatura:

1. LI, X.; LI, P.; LIN, X.; ZHANG, Ch.; LI, Q.; GONG, Z.: Biodegradation of Aged Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) by Microbial Consortia in Soil and Slurry Phases. *Journal of Hazardous materials*. **2008**, 150, 21-26.
2. KIM, I.; PARK, J.; KIM, K.: Enhanced Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Using Nonionic Surfactants in Soil Slurry. *Applied geochemistry*. **2001**, 16, 1419-1428.
3. MAKAR, R.S.; ROCKNE, K.J.: Comparison of Synthetic Surfactants and Biosurfactants in Enhancing Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Environmental toxicology and chemistry*. **2003**, 10, 2280-2292.
4. CAMEOTRA, S.S.; MAKAR, R.S.: Biosurfactant-enhanced Bioremediation of Hydrophobic Pollutants. *Pure and Applied Chemistry*. **2010**, 82, 97-116.

5. KIM, H.S.; WEBER, V.J.: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Behavior in Bioactive Soil Slurry Reactors Amended With Nonionic Surfactant. *Environmental toxicology and chemistry*. **2005**, 24, 268-276.
6. ZHU, H.; AITKEN, M.D.: Surfatant-Enhanced Desorption and Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Contaminated Soil. *Environmental Science Technologies*. **2010**, 44, 7260-7265.
7. ZHU, H.; SINGLETON, D.R.; AITKEN, M.D.: Effects of Nonionic Surfactant Addition on Populations of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Degrading Bacteria in a Bioreactor Treating Contaminated Soil. *Environmental Science Technologies*. **2010**, 44, 7266-7271.

Vliv povrchově aktivních látek na tvorbu a stabilitu biofilmů

Hedbávná P., Schreiberová O., Masák J.

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

V práci byl sledován vliv čtyř povrchově aktivních látek, potenciálně použitelných pro usnadnění bioremediace hydrofobních látek, na tvorbu a stabilitu biofilmu bakterie *Rhodococcus erythropolis*. Biofilm byl online monitorován v průtočné cele za použití světelné mikroskopie v kombinaci s analýzou obrazu. Změny v jeho struktuře byly stanovovány pomocí osídlené plochy a dalších parametrů, jako je velikost a počet kolonií *Rhodococcus erythropolis*. Z výsledků je patrné, že lineární alkylsulfonáty (aniontové surfaktanty) mají vždy negativní vliv na biofilm *Rhodococcus erythropolis*, zatímco ostatní použité surfaktanty mohou tvorbu biofilmu podporovat. Nejvýraznější pozitivní vliv na biofilm má surfaktant ze skupiny alkoholethoxylátů-propoxylátů (neionogenní surfaktant) pod svou kritickou micelární koncentrací a rhamnolipid, patřící mezi biosurfaktanty, nad kritickou micelární koncentrací.

Biofiltrace směsí par hydrofobních a hydrofilních sloučenin

Brož J., Vaněk T., Páca J.

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Práce se zabývala srovnáním výkonnostních parametrů u různých typů reaktorů degradujících směsi par hydrofilních a hydrofobních látek při různých zátěžích systémů. Použitými polutanty byly aceton a styren. Byly použity tyto typy reaktorů: zkrápěný náplňový reaktor, biofiltr, zkrápěný náplňový reaktor a biofiltr v sériovém zapojení a probublávaný submersní reaktor. Výsledky poukazují na lepší efektivitu zkrápěného náplňového reaktoru a probublávaného submersního reaktoru při degradaci ve vodě rozpustného acetonu, jehož hydrofilní vlastnosti umožňují vyšší degradační účinnost a rychlost než v biofiltru. Zapojením zkrápěného náplňového reaktoru a biofiltru do série bylo dosaženo vyšší účinnosti a rychlosti degradace směsí par acetonu a styrenu, než u samostatných reaktorů.

Analýza intermediátů a biomasy v průběhu biofiltračních procesů

Hanková M., Vaněk T., Halecký M.

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

V rámci této práce byly studovány různé způsoby degradace acetonu, styrenu a jejich směsi z hlediska kvalitativního a kvantitativního analytického stanovení vznikajících intermediátů. Dále byl studován růst mikroorganismů na identifikovaných intermediátech.

Pro vlastní analytické stanovení byly využity různé chromatografické metody (HPLC a GC) a také metody předúpravy vzorků (extrakce, SPME, esterifikace a derivatizace karbonylových sloučenin), které zvyšují efektivitu stanovení intermediátů.

Analytické vzorky byly získány z fed-batch kultivací v Erlenmeyerových baňkách na třepáčkách, v biofiltru, biotrikling filtru a air-lift bioreaktoru. Tyto biodegradace byly prováděny za použití směsné mikrobiální populace izolované z dlouhodobě provozovaného biofiltru pro degradaci acetonu a styrenu. Dále byly analyzovány vzorky z biodegradací čistých kultur izolovaných z původní směsné populace. Tyto čisté kultury byly identifikovány a výsledky jsou zde shrnuty.

Všechny analytické metody a metody předúpravy byly vyhodnoceny z hlediska stanovení intermediátů a byly navrženy další směry hlubší analýzy dané problematiky.

Biologický účinek nanočástic nulmocného železa

Homolová L., Jirků V.

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Stále se rozšiřující využití nanočástic nulmocného železa v remediaci spodní vody a půdy kontaminované halogenovanými uhlovodíky nebo těžkými kovy, je případem, kdy chybí analýza cytotoxicity tohoto nástroje remediace. V této souvislosti je práce zaměřena na charakteristiku preparátu NANOFER 25 (NANOIRON®, Future Technology, ČR). Buněčné populace modelového bakteriálního a kvasinkového kmene byly charakterizovány z hlediska vlivu podmínek aplikace preparátu NANOFER 25 na zachování schopnosti buněčné reprodukce, a dále na proces lipoperoxidace a karbonylace proteinů. Přepokládanou podstatou biotické toxicity preparátu NANOFER 25 je oxidativní stres. Procento přežívajících a stupeň lipoperoxidace i karbonylace proteinů je ovlivněn jak růstovou fází, koncentrací preparátu a hodnotou pH prostředí exponované buněčné populace, tak preadaptivním oxidativním stresem, chelatací železa i látkami eliminujícími reaktivní formy kyslíku.

Protinádorové účinky antimikrobiálních peptidů izolovaných z hmyzu

Mlsová V., Slaninová J., Macková M.

Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha

Antimikrobiální peptidy (AMP) jsou látky přirozeného imunitního systému tvoří první obrannou linii proti infekcím. Z jedových včků divokých včel *Macropis fulvipes* byly izolovány dva nové α -helikální peptidy makropiny (MAC-1 a MAC-2) a následně byla připravena řada strukturních analogů. Cílem této práce bylo stanovit cytotoxicitu makropinů vůči nádorovým (buňky děložního čípku, HeLa-S3, buňky karcinomu tlustého střeva, CRC SW 480, a buňky lidské akutní lymfatické leukemie, CCRF CEM) a normálním buněčným liniím (lidské endotheliální buňky z pupečnickové žíly, HUVEC, a potkaní střevní epitheliální buňky, IEC). K působení makropinů jsou nejcitlivější HeLa-S3 a CCRF-CEM, nejaktivnější analoga dosahují hodnot LC_{50} (letální koncentrace) do 10 μ M. Nejméně toxické jsou makropiny pro normální buňky. Rozdíly v toxicitě vůči normálním a nádorovým buňkám nejsou příliš vysoké. Druhá část práce byla zaměřena na studium možného mechanismu působení AMP z jedu hmyzu na nádorové buňky s využitím fluorescenční mikroskopie a průtokové cytometrie. Z dřívějších studií vznikla hypotéza, že se AMP akumuluje v mitochondriích a mohlo by docházet k indukci apoptózy. Cílem práce bylo tuto domněnku ověřit.

Syntéza a studium funkcionalizovaných steroidních stužek

Kvasnička M., Drašar P.

Ústav chemie přírodních látek, VŠCHT Praha

Steroidní stužky jsou lineární oligomerní molekuly vzniklé spojením bloků. Potenciálním využitím tetrasteroidních stužek, jejichž délka odpovídá tloušťce biologické membrány, by mohly být procesy vyžadující zvýšení rigidity, narušení biologické membrány, vytvoření transmembránového kanálu, apod.

Výhodou při zabudovávání těchto stužek do biologické membrány by měla být podobnost jednotlivých monomerů s molekulou cholesterolu, která se v membráně eukaryotické buňky přirozeně vyskytuje.

Pro spojování jednotlivých steroidních monomerů byl použit mechanismus Yamaguchiho esterifikace. Esterová vazba byla vybrána pro svou flexibilitu. Potvrzování struktur látek bylo prováděno metodami ^1H NMR, ^{13}C NMR, IČ a HPLC-MS. Podařilo se nově připravit a popsat monomerní modelový derivát a sedm smíšených lineárních oligomerů.

Biofiltrace par směsi uhlovodíků

Rousová J., Páca J., Halecký M.

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Práce se zabývala biofiltrací par benzínu a par směsi alifatických uhlovodíků nafty v dvoustupňovém náplňovém reaktoru – biofiltru, kde náplňovým materiálem byl poraver a perlit. Cílem práce bylo popsat chování biofiltru při zátěži změnou vstupní koncentrace, změnou průtoku vzduchu a změnou polutantu. Dále byly provedeny mikrobiologické analýzy biofilmu, tedy izolace a identifikace mikroorganismů a stanovení počtu mikroorganismů metodou kolonie tvořících jednotek. Nejvyšší eliminační kapacity $74 \text{ g.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$ bylo dosaženo při degradaci směsi alifatických uhlovodíků nafty. Maximální eliminační kapacita pro degradaci par benzínu byla $18 \text{ g.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$. Bylo prokázáno, že za stejných hodnot organické zátěže lze dosáhnout vyšších hodnot degradační účinnosti při zvyšování vstupní koncentrace než při zvyšování průtoku vzduchu biofiltrem. Při degradaci benzínu byla pozorována preference aromatických uhlovodíků před alifatickými, při degradaci směsi alifatických uhlovodíků nafty byla patrná preference uhlovodíků s vyšším počtem uhlíků. Mikrobiologickými rozbory byla zjištěna přítomnost G^- bakterií, kvasinky a plísň. Rovněž bylo po změně polutantu z par benzínu na páry alifatických uhlovodíků nafty pozorováno výrazné zvýšení poměru primárních degradérů vůči celkovému počtu buněk.

Mikrobiální degradace nitroaromatických sloučenin

Karlová P., Halecký M., Páca J.

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Práce byla zaměřena na aerobní biodegradace nitrofenolů a nitrotoluenů. Tyto látky byly degradovány z vodného prostředí pomocí směsných mikrobiálních populací a to jak volnými buňkami v submerzních vsádkových kultivacích, tak i imobilizovanými buňkami v kontinuálně pracujících náplňových reaktorech.

Ve vsádkových kultivacích byl 2,6-dinitrofenol odbouráván rychleji než 2,4-dinitrofenol, a to při degradacích dinitrofenolů jednotlivě i ve směsi. Při degradaci dinitrofenolů z jejich směsi dosáhly populace adaptované na 2,4-dinitrofenolu vyšších rychlostí odbourávání obou dinitrofenolů než populace adaptované na 2,6-dinitrofenolu.

Účinnost odbourávání 2,4-dinitrofenolu a 2,6-dinitrofenolu při zátěži vstupní koncentrací byla studována ve dvou kontinuálně pracujících náplňových reaktorech. Oba reaktory byly schopny s vysokou účinností odbourat vyšší koncentrace 2,4-dinitrofenolu než 2,6-dinitrofenolu.

Hodnocení vybraných metod separace butanolu z fermentačních médií

Kadlec J., Fribert P., Truhlář P., Rychtera M.

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Zájem o fermentační výrobu 1-butanolu s využitím anaerobních bakterií rodu *Clostridium* se v posledních letech výrazně zvýšil. Důvodem zájmu jsou jeho dobré fyzikálně chemické vlastnosti pro jeho využití jako aditiva do benzínového či naftového paliva. Slabým místem fermentačního procesu je jeho nízká koncentrace v médiu, která je dána vysokým inhibičním účinkem 1-butanolu na produkční mikroorganismus. Proto se hledají metody, které by vedly k průběžnému odstraňování tohoto produktu z fermentačního média. V této práci byla studována jedna z možných metod separace butanolu – stripování plynem. Bakterie rodu *Clostridium* tvoří kromě butanolu též aceton a ethanol. Vystripovaná organická rozpouštědla byla následně získána z plynné fáze zkondenzováním nebo adsorpcí/desorpcí z vhodného absorbentu (aktivní uhlí). Jako stripovací plyny byly zvoleny dusík a oxid uhličitý. Stripování bylo provedeno v čistých vodných roztocích rozpouštědel a dále s přísadky anorganických a organických živin. Z bilančních rovnic byl proces hodnocen pomocí koeficientů přestupu látek.

Struktura a vlastnosti substituovaných alkyl-6-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl) hexanoátů jakožto látek zesilujících transdermální penetraci

Káčerová S., Raich I.

Ústav chemie přírodních látek, VŠCHT Praha

Pro řadu substituovaných esterů 6-aminohexanové kyseliny byly s použitím *ab initio* metod a predikčních programů předpovídaný strukturní a farmakologicky zajímavé fyzikálněchemické vlastnosti, především $\log P$, pK_a a parciální náboje, a přesné prostorové uspořádání. Geometrické optimalizace všech 8 studovaných látek byly prováděny v několika stupních na různých teoretických úrovních v plynném a solvovaném stavu. Zastoupení jednotlivých konformerů bylo vypočteno s využitím Boltzmannova vztahu. Pro predikci rozdělovacích a distribučních koeficientů byly použity programy ACD/LogP DB a ACD/LogD DB. Hodnoty pK_a byly predikovány pomocí programu ACD/ pK_a DB. Parciální náboje byly počítány ESP metodou na úrovni HF/6-31G(d,p). ^{13}C -NMR spektra byla počítána na úrovni B3PW91/6-311G+(d,p) a následně rovněž predikována pomocí programu ACD/C+H NMR Predictor. Vypočtené a predikované hodnoty byly porovnány s dostupnými experimentálními údaji z literatury.

Využití xanthohumolu ve funkčních potravinách a potravinových doplncích

Hudcová T., Jelínek L., Karabín M., Dostálek P.

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Chmel je důležitým zdrojem biologicky aktivních sekundárních metabolitů a to nejen v pivovarství, ale i ve farmaceutickém průmyslu. V současné době se dostává do popředí zájmu vědecké veřejnosti zejména prenylflavonoid xanthohumol, a to především v souvislosti se svými prokázanými biologickými účinky (antioxidační, antikarcinogenní, antimikrobiální atd.).

Cílem této práce bylo navrhnout postup pro přípravu extraktu s vysokým podílem xanthohumolu (vyšším než 20 % hm.). Jako výchozí materiál jsme vzhledem k výhodným vlastnostem (vysoký obsah xanthohumolu, nízký obsah hořkých látek) použili zbytek chmelového materiálu odrůdy Vital po extrakci oxidem uhličitým. Optimalizovanou metodou se podařilo připravit extrakt s obsahem xanthohumolu téměř 30 % hm. Dále byl navržen a odzkoušen postup fortifikace funkčních potravin (čokoláda, jogurt a kombucha) touto látkou.

Ovlivnění tvorby a stability biofilmu stilbeny

Smetková M., Kolouchová I.

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Stilbeny jsou polyfenolické látky produkováné některými druhy rostlin ve zvýšené míře jako reakce na stresové podmínky. V posledních letech jim je věnována obrovská pozornost a to především díky jejich biologickým účinkům. V této práci byl studován vliv stilbenických sloučenin, *trans*-resveratrolu, pterostilbenu a pinosylvinu, na tvorbu a stabilitu mikrobiálního biofilmu. V rámci studia adheze, která je počátečním krokem tvorby biofilmu, byly sledovány fyzikálně-chemické vlastnosti buněčného povrchu G^- bakterie *Pseudomonas fluorescens* CCM 2115 a kvasinky *Candida utilis* CCM 2160. K tomuto účelu bylo využito testování hydrofobity buněčného povrchu metodou MATH a metodou měření kontaktních úhlů (CAM) s využitím termodynamického modelu pro předpověď adheze.

V další části byla testována schopnost samotných buněk adherovat k různým materiálům (sklo a polypropylen). Stilbeny byly přidávány jako možná antimikrobiální činidla v koncentraci 500 $\mu\text{g/l}$.

Bylo zjištěno, že stilbeny v koncentraci 500 $\mu\text{g/l}$ působí ve většině případů na mikrobiální buňky proliferativně.

Produkce biosurfaktantu na bázi rhamnolipidu

Kosová B., Jirků V.

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Dva bakteriální kmeny (*Pseudomonas aeruginosa* B59 - 183, *Pseudomonas aeruginosa* B59 - 184, ARS Culture Collection, Bacterial Foodborne Pathogens and Mycology Research Unit, USA) byly komparativně charakterizovány s cílem nalézt vhodný produkční kmen vícesložkového biosurfaktantu rhamnolipidového typu (v současnosti nedostupný v ČR). Vztah buněčného růstu a produkce tohoto sekundárního metabolitu byl sledován v závislosti na použitém zdroji uhlíku: n-dekan, dodekan, tridekan, tetradekan, pentadekan, hexadekan, glukosa, fruktosa, citrát sodný, glycerol, mannitol, pyruvát sodný, včetně dalších modifikací kultivačních podmínek. V případě vybraného kmene: *Pseudomonas aeruginosa* B59 - 184 je tato práce věnována optimalizaci produkce rhamnolipidu, purifikaci jednotlivých rhamnolipidů, jejich identifikaci a následně předběžné charakterizaci biologické aktivity produkované směsi rhamnolipidů: tj. permeabilizaci biologické membrány, uvolňování bílkovin do mimobuněčného prostoru, změně hydrofobity buněčného povrchu a vlivu na vývoj biofilmu.

Modifikace nukleas pro zlepšení jejich farmakokinetických vlastností

Soor D., Lipovová P., Spiwok V.

Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha

Tato práce se na příkladu tří rostlinných nukleas s prokázanou antitumorózní aktivitou zabývá problematikou kovalentních modifikací proteinů molekulami polyethylglykolu. Během přípravy práce bylo pro popis modifikací rostlinných nukleas využito experimentálních a počítačových metod. Metodou komparativního modelování byla předpovězena prostorová struktura tří rostlinných nukleas a pomocí poznatků získaných touto predikcí prostorových struktur byla provedena experimentální modifikace vybraných rostlinných nukleas a byly formulovány podmínky vhodné pro proces jejich kovalentní modifikace molekulami polyethylenglykolu. Na základě nedávno zjištěné prostorové struktury jedné z těchto enzymů byla pomocí počítačových metod simulována molekulová dynamika nemodifikované a modifikované formy nukleasy. Díky výsledkům provedené simulace byl popsán vliv modifikace nukleasy molekulami polyethylglykolu na změny v její prostorové struktuře, které mohou souviset s její biologickou aktivitou.

Modifikace povrchových vlastností buněk působením antimikrobních látek

Pospíšilová D., Masák J.

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Úvod

Biofilm bývá charakterizován jako mikrobiální společenství uzavřené v polymerní matrix, adherující k povrchu a k sobě navzájem, které vytváří dynamické prostředí umožňující buňkám dosažení určité formy homeostaze a je optimálně organizované tak, aby bylo možno využít všechny dostupné nutrienty (Hori, Matsumoto 2010). Mikroorganismy rostoucí v biofilmu se liší od buněk suspenzních v mnoha aspektech. Vykazují odlišnou růstovou rychlost, buněčnou morfologii i fyziologii a mohou projevovat odlišnou fyziologickou odpověď na nutriční podmínky (McLandsborough *et al.* 2006). Pozoruhodným rysem biofilmů je jejich vysoká odolnost vůči stresům. Život v biofilmu umožňuje buňkám přežití i růst za rozmanitých (extrémních) podmínek; odlišná fyziologie může vést například ke zvýšení rezistence k cytotoxickým vlivům i antibiotikům (De Beer, Stoodley 2006). V biofilmu zachycené mikroorganismy mohou být až 1000x odolnější k biocidům, než buňky volné (Junter *et al.* 2002). Tato snížená citlivost adherovaných buněk k inhibujícím látkám je klíčovým problémem při léčbě chronických infekčních onemocnění.

Adheze a tvorba biofilmu je složitý proces, ovlivňuje ho celá řada proměnných, jako proudění a vlastnosti média v okolním prostředí buněk, pH, iontová síla, ale také dostupnost živin a teplota. Značný vliv má dále aktivita buněk, jejich množství, doba interakce s materiálem, nebo přítomnost limitujících vlivů (stresových faktorů), jako např. antibiotik a toxických látek (Dunne 2002). Ve velké míře adhezi ovlivňuje hydrofobita povrchu buněk a osídlovaného materiálu, jelikož v počátečních fázích procesu adheze se uplatňují zejména hydrofobní interakce. Další z vlastností povrchu, také podmíněnou jeho složením, je náboj povrchu buněk (Palmer *et al.* 2007). Dynamicky reaguje na změny prostředí, protože je odvozen od disociace funkčních skupin na povrchu buňky (Wilson *et al.* 2001). Složení, struktura a tedy i vlastnosti povrchu jsou významně ovlivněny vnějším prostředím, podmínkami kultivace, látkami přítomnými v růstovém mediu. Přítomnost antibiotik a dezinfekčních prostředků může způsobit celou řadu změn ve vlastnostech povrchu buněk mikroorganismů, které se projevují na molekulární úrovni. Některá antibiotika způsobují narušení metabolismu a tvorby komponent obalových vrstev buněk, jiná interagují s těmito strukturami přímo (Furneri *et al.* 2003). Do současnosti bylo publikováno omezené množství poznatků o vlivu antibiotik a dezinfekčních prostředků na vlastnosti povrchu bakteriálních buněk (např. Furneri *et al.* 2003, Wu *et al.* 1995, Ellepola, Samaranayake 1998). Prohloubení těchto poznatků

má bezesporu význam jak z hlediska fyziologie mikrobiálních buněk, tak může přispět k řešení nežádoucí kolonizace tkání a materiálů ve zdravotnictví.

Materiál a metody

Použitý mikroorganismus

Zkoumaným mikroorganismem byl *Rhodococcus erythropolis* CCM 2595. Kultivace probíhala v minimálním mediu se sukcinátem (10 g/l) jako jediným zdrojem energie a uhlíku v třepaných temperovaných baňkách.

Použité antimikrobní látky

Pro sledování vlivu antimikrobních látek na hydrofobitu a hodnotu zeta potenciálu byly vybrány následující látky: bacitracin (peptidové antibiotikum), chlorhexidin (baktericidní látka, biguanidová struktura). Byla určena minimální inhibiční koncentrace (MIC, Kroupa 2011) a pro pokusy byly použity koncentrace odpovídající $\frac{1}{4}$ MIC, $\frac{1}{2}$ MIC a MIC.

Charakteristika povrchu buňky

Hydrofobita povrchu buňky byla měřena pomocí metody přisedlé kapky[9]. Při této metodě je určován úhel smáčení (kontaktní úhel) θ , který se vytvoří mezi plynnou, kapalnou a pevnou fází v místě styku všech tří fází. Na homogenní vrstvu buněk, získanou odstředěním a promytím 0,1M KNO₃, která byla po tenkých vrstvách nanесena na podložní sklo, byla kapána kapka vody a snímána kamerou pomocí přístroje KSV CAM200 (KSV, Finsko) a pomocí softwaru vyhodnocen kontaktní úhel. Kontrolní metodou byla metoda MATH.

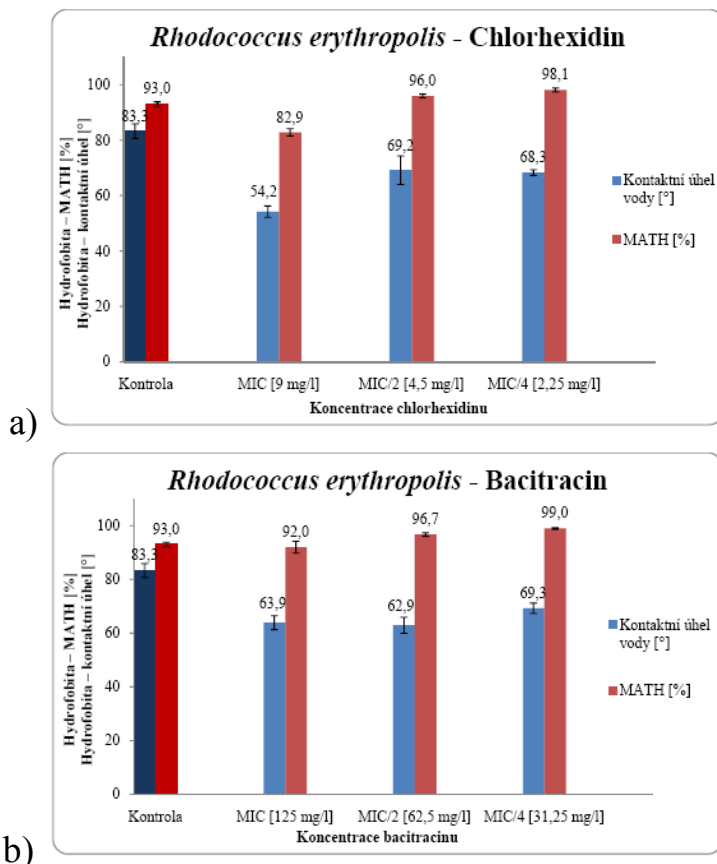
Hodnota zeta potenciálu byla měřena na přístroji Zetasizer nano (Malvern Ltd.). Buňky byly odstředěny (20 min, 10 °C, 7878 g) z minerálního média, promyty 0,01 M roztokem dusičnanu draselného o pH 7 a znovu odstředěny (10 min, 4 °C, 9050 g). Následně byly buňky resuspendovány v 0,01 M roztoku dusičnanu draselného o pH 7 a optická hustota suspenze byla upravena na hodnotu 0,5. Před měřením zeta potenciálu byla buněčná suspenze vystavena působení ultrazvuku po dobu 30 s a následně přefiltrována přes filtr s porozitou 0,45 μ m pro odstranění prachových částic a shluků buněk.

Testy adheze

Suspenze buněk o OD₄₀₀ 0,6 byla převedena do plastových kyvet s mediem a antibiotikem v potřebné koncentraci, kam byly vloženy nosiče. Silikonové nosiče pro adhezi mikroorganismů byly uchyceny na konstrukci z chirurgické oceli. Buňky byly následně inkubovány na třepačkách 24 hodin při 30 °C a 100 RPM. Následně byly mikrobiální populace na povrchu silikonového nosiče obarveny fluorescenčním barvivem a na přístroji Cellavista (Roche) vyhodnocena míra adheze.

Výsledky a diskuze

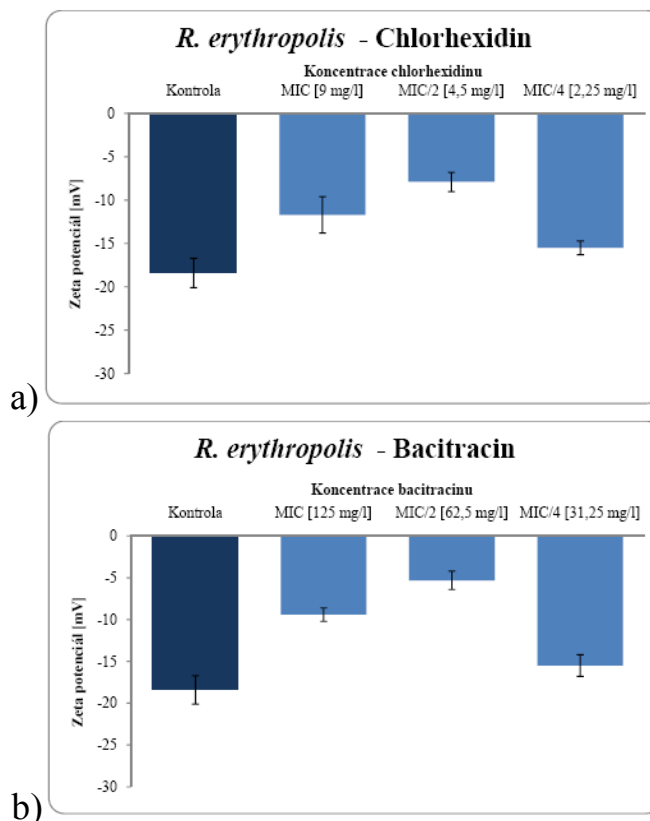
Použité látky snižují hydrofobitu povrchu buněk ve všech použitých koncentracích (Obr. 1)



Obr. 1: Hydrofobita buněk po působení antibiotik

Kontrolní metoda MATH, která je založena na jiném principu, tyto změny nezachycuje a proto není vhodná k jejich detekci.

Použité látky ovlivňují hodnotu zeta potenciálu buněk (Obr. 2). Působení obou látek má podobný charakter, největší změna je zaznamenána při působení $\frac{1}{2}$ MIC, kdy dochází k zvýšení hodnoty.



Obr. 2: Hodnota zeta potenciálu buněk po působení antibiotik

Pro test adheze byla vybrána koncentrace antimikrobních látek odpovídající MIC/2. Tato koncentrace byla vybrána proto, že byly detekovány výrazné změny povrchových vlastností, ale zároveň tato koncentrace nemá takový toxický vliv jako MIC. Obě použité látky snižují míru adheze buněk na silikonový nosič. V případě bacitracinu došlo k poklesu osídlené plochy ve srovnání s kontrolním vzorkem o 70 %, v případě chlorhexidinu o 15%.

Výrazně sníženou osídlenou plochu bakterie *R. erythropolis* s antibiotiky o koncentraci odpovídající polovině MIC lze vysvětlit výrazným snížením hydrofobity buněčných obalů, které způsobilo výrazný pokles hydrofobních interakcí, které jsou hlavní složkou sil působících při buněčné adhezi. Tento pokles nemohl být vyrovnán ani výrazným vzrůstem zeta potenciálu se souvisejícím snížením elektrických odpuzivých sil, jelikož, jak uvádí Bayoudh a kol. (2009), příspěvek elektrických interakcí je o jeden až dva řády nižší než hodnota hydrofobních interakcí.

Závěr

Použité látky působí na povrchové struktury buněk a mění jejich fyzikálně-chemické vlastnosti. Povrchové vlastnosti buněk se ve velké míře podílí i na adhezivních schopnostech. Dle výsledků testů adheze má tato změna povrchových vlastností důsledek i ve změně schopnosti adheze.

Poděkování

Tato práce byla financována z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č.21/2011)

Literatura

1. Bayoudh, S., Othmane, A., Mora, L., Ouada, H. B. (2009): Assessing bacterial adhesion using DLVO and XDLVO theories and the jet impingement technique. *Colloids and Surfaces, B: Biointerfaces* 74: 1–9
2. De Beer D., Stoodley P. (2006): Microbial biofilms. *Prokaryotes* 1: 904–937
3. Dunne W. M.: Bacterial adhesion (2002): Seen Any Good Biofilms Lately? *Clinical microbiology reviews* 15:155–166
4. Ellepola A. N. B, Samaranayake L. P. (1998): The effect of limited exposure to antimycotics on the relative cell-surface hydrophobicity and the adhesion of oral *Candida albicans* to buccal epithelial cells. *Archives of Oral Biology* 43: 879–887
5. Furneri P. M. Adriana Garozzo A., Musumarra M. P., Scuderi A. C., Russo A., Bonfiglio G. (2003): Effect of adhesiveness and hydrophobicity of sub-inhibitory concentrations of netilmicin. *International Journal of Antimicrobial Agents* 22: 164–167
6. Hori K., Matsumoto S. (2010): Bacterial adhesion: from mechanism to control. *Biochemical Engineering Journal* 48: 424–434
7. Junter G., Coquet L., Vilain S., Jouenne T. (2002): Immobilized-cell physiology: current data and the potentialities of proteomics. *Enzyme and Microbial Technology* 31: 201–212
8. Kroupa T. Vliv potenciálních inhibitorů mikrobiální adheze na hydrofobitu bučného povrchu. Diplomová práce, VŠCHT Praha, 2011.
9. McLandsborough L., Rodrigues A., Pérez-Conesa D., Weiss J. (2006): Biofilms at the interface between biophysics and microbiology. *Food biophysics* 1: 94–114
10. Palmer J., Flint S., Brooks J. (2007): Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 34: 577–588
11. Wilson W. W., Wade M. M., Holman S. C., Champlin F. R. (2001): Status of methods for assessing bacterial cell surface charge properties based on zeta potential measurements. *Journal of Microbiological Methods* 43: 153–164
12. Wu Q., Wang Q., Taylor K. G., Doyle R. J. (1995): Subinhibitory concentrations of antibiotics affect cell surface properties of *Streptococcus sobrinus*. *Journal of Bacteriology* 5: 1399–1401

Vliv potenciálních inhibitorů mikrobiální adheze na hydrofobitu buněčného povrchu

Kroupa T., Pospíšilová D., Masák J.

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Tato práce se zabývá vlivem antimikrobních látek, jmenovitě polymyxinu B, chlorhexidinu, bacitracinu a cefalosporinu C, na hydrofobitu buněčných obalů bakterií *Rhodococcus erythropolis* CCM 2595 a *Pseudomonas fluorescens* CCM 2115. Pro uvedené antimikrobní látky byly stanoveny hodnoty minimálních inhibičních koncentrací. Vliv látek byl sledován při koncentracích odpovídajících minimální inhibiční koncentraci, její polovině a čtvrtině. Hydrofobita buněčných obalů byla studována měřením kontaktních úhlů vody a metodou mikrobiální adheze k uhlovodíkům (MATH). Dále byla měřena hodnota zeta potenciálu uvedených kmenů po přidání antimikrobních látek a metodou X paprskové fotoelektronové spektroskopie byly studovány změny ve složení buněčných obalů po vystavení bakterií polovině minimální inhibiční koncentrace antimikrobních látek.

Následně byla testována schopnost adheze obou výše zmíněných bakterií na silikonové nosiče v přítomnosti antimikrobních látek o poloviční inhibiční koncentraci v kultivačním médiu.

Studium metabolického potenciálu rodu *Rhodococcus*

Zelenková T., Polová M., Čejková A.

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Tato práce je zaměřena na schopnosti bakterie *Rhodococcus erythropolis* CCM 2595 a kvasinky *Trichosporon cutaneum* CCY 30.5.10. využít respektive biodegradovat některé atypické aromatické látky (fenol, naftalen, 17 α -ethinylestradiol, fenylalanin a fenylacetát). Velká část je věnována studiu charakteristik spojených s degradací fenolu vybranými mikroorganismy. Významným předmětem této práce bylo rovněž zjistit schopnost využití 17 α -ethinylestradiolu. V další části této práce byla prokázána biodegradace naftalenu bakterií *Rhodococcus erythropolis* CCM 2595 během růstu na pevném médiu. V poslední části práce byl sledován růst *R. erythropolis* CCM 2595 při různých koncentracích fenylalaninu či fenylacetátu v médiu. Na základě zjištěných výsledků, byly vybrány vhodné růstové podmínky pro kultivaci tohoto mikroorganismu. Vzniklá biomasa byla použita k dalšímu výzkumu zabývajícímu se inkorporací částí těchto látek do buněčných obalů *R. erythropolis* CCM 2595.

Jednobuněčné řasy jako alternativní zdroj energie I.

Humhal T., Maršálková B., Brányik T.

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Tato práce se zaměřuje na využití jednobuněčných řas jako suroviny pro výrobu biopaliv. Řasová biotechnologie v poslední době zaznamenala značný rozvoj na poli výzkumu a mnoho firem v tomto odvětví vidí budoucnost produkce biopaliv. Tato práce nabízí přehled současné situace na poli biopaliv s důrazem na řasovou biotechnologii. V experimentální části se zaměřuje na nepřímou produkci bioethanolu. Tato technologie vychází z kultivace zelené řasy *Chlorella vulgaris*, která při specifických podmínkách dokáže akumulovat značné množství polysacharidů v sušině (až 70 % hm.). Tyto polysacharidy jsou následně enzymaticky rozštěpeny na zkvasitelné cukry, které jsou převedeny prostřednictvím fermentace kvasinkami *Saccharomyces cerevisiae* na ethanol. Konkrétně je zde řešena problematika kultivace, reologie zahuštěné řasové suspenze, enzymové hydrolýzy, fermentace a v neposlední řadě odhadu ekonomické bilance provozních nákladů.

Separační metody používané pro sklizení mikroskopických řas

Procházková G., Brányik T.

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Biotechnologie mikroskopických řas (sladkovodních či mořských) neustále expanduje a sahá od doplňků stravy, přísad do krmiv, produkce cenných sekundárních metabolitů až po biotransformace různých chemických látek. V důsledku neustálého zvyšování cen ropy a hrozby globálního oteplování narůstá v posledních desetiletích celosvětový zájem o využití mikroskopických řas jako obnovitelného zdroje energie pro produkci uhlíkově neutrálních paliv (diesel, ethanol, vodík), přičemž jednou z hlavních výhod kultivací těchto mikroorganismů je biofixace skleníkového plynu CO₂ procesem fotosyntézy. V současné době je však produkce biopaliv pomocí mikroskopických řas neschopna z ekonomického a kvantitativního hlediska konkurovat produkci fosilních paliv. Jednu z překážek pro provoz ekonomicky efektivní velkovýroby biopaliv představuje sklizení narostlé řasové biomasy, které v současné době zaujímá 20-30% celkových provozních nákladů. Mezi hlavní technologie separace řasové biomasy náleží flokulace, sedimentace, centrifugace a flotace, přičemž některé z těchto procesů jsou energeticky velmi náročné. Mezi další faktory, přispívající k nesnadnému procesu sklizení řasové biomasy, patří: nízká koncentrace biomasy (většinou v rozsahu 0,3 – 6,0 g/l), koloidní velikost buněk některých druhů (2-40 μm) a negativní náboj buněk vedoucí k jejich setrvání v disperzní formě. Lze tedy říci, že výběr vhodné separační metody je závislý na charakteristikách produkčního kmene (velikost buněk, koncentrace biomasy, hodnota požadovaného produktu atd.) a je klíčový pro rentabilní produkci. Pro další vylepšení celého procesu je nutné vyvíjet nové a ekonomicky výhodnější alternativy ke konvenčním procesům, které by navíc byly šetrnější k životnímu prostředí.

Úvod

Biotechnologie mikroskopických řas (sladkovodních či mořských) neustále expanduje a sahá od doplňků stravy, přísad do krmiv, produkce cenných sekundárních metabolitů až po biotransformace různých chemických látek¹⁻³. Důvodem této široké biotechnologické variability jsou výhodné kultivační vlastnosti průmyslově významných kmenů (tj. rychlý růst vedoucí ke snížení riziku kontaminace, nutriční nenáročnost, schopnost dosáhnout vysokých produktivit a jistá odolnost vůči kolísavým podmínkám prostředí). Dodatečně lze využít ke kultivaci odpadní vody či spalné plyny z elektráren, vedoucí ke snížení provozních nákladů.

V důsledku neustálého zvyšování cen ropy a hrozby globálního oteplování narůstá v posledních desetiletích celosvětový zájem o využití mikroskopických řas jako obnovitelného zdroje energie pro produkci uhlíkově neutrálních paliv (diesel, ethanol, vodík)¹, přičemž jednou z hlavních výhod kultivací těchto mikroorganismů je biofixace skleníkového plynu CO₂ procesem fotosyntézy⁴.

V současné době je však produkce biopaliv pomocí mikroskopických řas neschopna z ekonomického a kvantitativního hlediska konkurovat produkci fosilních paliv. Jednu z překážek pro provoz ekonomicky efektivní velkovýroby biopaliv představuje sklizení narostlé řasové biomasy, které v současné době zaujímá 20-30% celkových provozních nákladů⁵.

Sklizení řasové biomasy

Nesnadný proces sklizení řasové biomasy je způsoben hlavně následujícími faktory: nízká koncentrace biomasy (většinou v rozsahu 0,3 – 6,0 g/l), malá velikost buněk některých druhů (2-40 μm) a negativní náboj buněk vedoucí k jejich setrvání v disperzní formě⁶. V současné době náleží mezi hlavní technologie separace řasové biomasy flokulace, sedimentace, centrifugace a flotace, přičemž některé z těchto procesů jsou energeticky velmi náročné⁵.

Obecně sestává proces sklizení řas ze dvou stupňů:

1. Separace biomasy od kultivačního média. Tento krok je závislý na koncentraci biomasy v médiu a na typu separační metody. Pomocí flokulace, ultrazvukové agregace, filtrace či sedimentace lze zkontrolovat biomasu 100 – 800x, s výsledkem 2-7 % celkového obsahu sušiny.
2. Zahuštění, vedoucí k dalšímu zkoncentrování řasové suspenze až na 27 % celkového obsahu sušiny pomocí centrifugace a filtrace. Tento stupeň je energeticky náročnější než stupeň první⁷.

Flokulace a ultrazvuková agregace:

Jedná se o první stupeň procesu sklizení řas, který je zaměřen na agregaci řasových buněk a zvětšení velikosti částic. Jde o předstupeň, který je následován další separační metodou, tj. filtrací, flotací či sedimentací. Jelikož buňky mikroskopických řas nesou negativní náboj, neumožňující přirozenou agregaci v suspenzi, je nutné přidávat pozitivně nabitě flokulanty ve formě multivalentních kationtů (FeCl₃, Al₂(SO₄)₃ apod.)⁸ či polymerů (např. chitosan⁹), které mají schopnost neutralizovat či zmenšit negativní náboj, anebo působí jako spojovací můstek mezi jednotlivými částicemi⁸.

Další metodou sklizení je šetrně akusticky indukovaná buněčná agregace použitím ultrazvuku, která je následována sedimentací. Ultrazvukovou separaci biomasy lze provozovat v kontinuálním režimu, přičemž buňky nejsou vystaveny negativním účinkům střížných sil, a také během toho nedochází k tzv. „fouling“ efektu¹⁰.

Flotace:

Princip flotace spočívá v zachycení buněk na hladině kapaliny použitím malých bublinek vzduchu, a tedy na rozdíl od flotace není potřeba dodávat chemické činidlo¹¹. Některé druhy v určité fázi svého buněčného cyklu obsahují hodně lipidů, a tak přirozeně plují na vodní hladině. V současné době není flotace považována za ekonomicky a technologicky vhodnou separační metodu pro řasovou biomasu⁷.

Usazování vlivem gravitace a centrifugace:

Obě tyto metody jsou založené na Stokesovu zákonu, tj. charakteristika usazování suspendovaných částic je dána hustotou buněk, jejich průměrem a sedimentační rychlostí. Usazování vlivem gravitace je nejrozšířenější separační metodou v procesech čištění odpadních vod, jelikož je nutné levně zpracovat velké objemy a získaná biomasa má nízkou tržní hodnotu. Tato metoda je vhodná pouze pro druhy, které mají velké buňky ($\leq 70 \mu\text{m}$)⁷.

V případě že produktem je cenný metabolit, extrakt pro výživu vodních organismů v akvakulturách¹² anebo biomasa určená jako doplněk lidské stravy, preferuje se pro sklizení centrifugace. Výhodami jsou rychlost, vysoká separační efektivita (přesahující 95 %) a možnost zkoncentrovat biomasu na 15 % sušiny. Nevýhodou je vysoká energetická náročnost procesu^{7,10}.

Filtrace:

Pomocí procesu filtrace lze dosáhnout až 27 % sušiny, přičemž konvenční filtrační procesy jsou vhodné pouze pro separaci velkých buněk ($\leq 70 \mu\text{m}$) a nelze je použít pro řasy mající velikost buněk srovnatelnou s bakteriemi ($>10 \mu\text{m}$), jako jsou např. druhy *Chlorella* a *Scenedesmus*. Pro separaci malých řasových buněk je potřeba aplikovat mikrofiltraci či ultrafiltraci. Tyto metody jsou vhodné pro křehké buňky, které vyžadují nízké průtoky⁷. V případě zpracování malých objemů ($\leq 2 \text{ m}^3/\text{den}$) může být membránová filtrace ekonomicky výhodnější než centrifugace, avšak nevyplácí se to v případě zpracování větších objemů ($> 20 \text{ m}^3/\text{den}$)¹³.

Závěr

Lze tedy říci, že výběr vhodné separační metody je esenciální pro ekonomicky efektivní produkci řasové biomasy a je závislý na charakteristikách daného produkčního kmene (velikost a tvar buněk, koncentrace biomasy, hustota buněk, povrchové vlastnosti buněk, hodnota požadovaného produktu atd.)¹⁴. Pro další vylepšení celého procesu je nutné vyvíjet nové a ekonomicky výhodnější alternativy ke konvenčním procesům, které by navíc byly šetrnější k životnímu prostředí. Klíčovými faktory by přitom mohlo být hlubší porozumění a kontrola vzájemných interakcí buněk s ostatními povrchy.

Poděkování:

Tato práce vznikla za finanční podpory GAČR (P503/10/1270) a z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č.21/2011).

Literatura

1. Greenwell HC, Laurens LML, Shields RJ, Lovitt RW, Flynn KJ (2010) Placing microalgae on the biofuels priority list: a review of the technological challenges. *J. R. Soc. Interface*, 7: 703-726.
2. Harun R, Singh M, Forde GM, Danquah MK (2010) Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. *Renew. Sust. Energ. Rev.*, 14: 1037-1047.
3. Greca MD, Pinto G, Pistillo P, Pollio A, Previtera L, Temussi F (2008) Biotransformation of ethinylestradiol by microalgae. *Chemosphere*, 70: 2047-2053.
4. Benemann JR (1997) CO₂ mitigation with microalgal systems. *Energy Convers. Mgmt*, 38: 475-479.
5. Uduman N, Qi Y, Danquah MK, Forde GM, Hoadley A (2010) Dewatering of microalgal cultures: a major bottleneck to algae-based fuels. *J. Renew. Sust. Energ.* 2, 012701.
6. Chen C, Kuei-Ling Yeh K, Aisyah R, Lee D, Chang J (2011) Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. *Bioresource Technol.*, 102: 71-81.
7. Brennan L, Owende P (2010) Biofuels from microalgae – a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renew. Sust. Energ. Rev.*, 14: 557-577.
8. Molina GE, Belarbi EH, Acien FG, Robles MA, Chisti Y (2003) Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. *Biotechnol. Adv.*, 20(7-8):491-515.
9. Divakaran R, Pillai VNS (2002) Flocculation of algae using chitosan. *J. Appl. Phycol.*, 14(5):419-422.

10. Bosma R, van Spronsen WA, Tramper J, Wijffels RH (2003) Ultrasound, a new separation technique to harvest microalgae. *J. Appl. Phycol.*, 15(2):143–153.
11. Wang B, Li Y, Wu N, Lan C (2008) CO₂ bio-mitigation using microalgae. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 79(5):707–718.
12. Heasman M, Diemar J, O'Connor W, Sushames T, Foulkes L (2000) Development of extended shelf-life microalgae concentrate diets harvested by centrifugation for bivalve molluscs—a summary. *Aquac. Res.*, 31(8–9):637–659.
13. MacKay D, Salusbury T (1988) Choosing between centrifugation and crossflow microfiltration. *Chem. Eng. J.*, 477:45–50.
14. Olaizola M (2003) Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace. *Biomol. Eng.*, 20(4–6): 459-466.