

Diplomové práce absolventov Ústavu biotechnológie Fakulty chemickej a potravinárskej technológie Slovenskej technickej univerzity v Bratislave roku 2017

Graduate Diploma Thesis of the Institute of Biotechnology of the Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology in Bratislava in 2017

Daniela Šmogrovičová

Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

Dňa 5. júna 2017 na Ústave biotechnológie Fakulty chemickej a potravinárskej technológie Slovenskej technickej univerzity v Bratislave úspešne ukončilo vysokoškolské štúdium v študijnom programe Biotechnológia 27 študentov, z toho dvaja s vyznamenaním. Obhajoby diplomových prác prebiehali na Ústave biotechnológie v dvoch komisiách pre štátne skúšky, pod vedením prof. Ing. Michala Rosenberga, PhD. a doc. Ing. Daniely Šmogrovičovej, PhD. Členovia štátnicových komisií, vedúci a oponenti diplomových prác sú významnými pedagógmi, vedcami a uznávanými odborníkmi z praxe.

V nasledovnom prehľade je uvedené meno absolventa, v zátvorke meno vedúceho diplomovej práce, prípadne konzultanta, názov diplomovej práce a jej krátka anotácia. Ak vedúci práce alebo konzultant nebol z FCHPT STU, za jeho menom je uvedené aj jeho pracovisko.



Bc. Zuzana Adamcová (školiťel: doc. Ing., Daniela Šmogrovičová, PhD., konzultant: Ing. Júlia Čaplová)

PRÍPRAVA A CHARAKTERIZÁCIA ŠPECIÁLNYCH PÍV SPECIAL BEER PRODUCTION AND CHARACTERISATION

Cieľom diplomovej práce bolo pripraviť a charakterizovať špeciálne pivo. Vyhodnocoval sa vplyv použitého sladu (plzenský, viedenský), bylínky (mäta pieporná, zelený čaj, baza čierna), jej návažku (0 g, 4 g, 8 g a 12 g na 3 litre mladiny) a kmeňa kvasinky (S-23, W-34/70) na parametre piva a antioxidačnú aktivitu vzoriek. Vo všetkých pivách s bylinným prídavkom bolo zistené zvýšenie antioxidačnej aktivity oproti kontrolnej vzorke bez bylinného prídavku. Antioxidačná aktivita pív s bylinným prídavkom klesala v smere zelený čaj,

baza čierna, mäta pieporná. Najvyšší percentuálny nárast antioxidačnej aktivity (meranej metódou ABTS) sa zaznamenal v pive pripravenom z mladiny z plzenského sladu s prídavkom 12 g zeleného čaju fermentovanom kmeňom kvasinky S-23, v ktorom došlo k nárastu o 50,5 % oproti kontrolnej vzorke. Táto vzorka mala aj najväčší percentuálny nárast koncentrácie polyfenolov (204,2 %). Vyššie koncentrácie etanolu (v priemere o 8,9 %) boli dosiahnuté v pive fermentovanom kmeňom W34/70, ktorý preukázal lepšiu fermentačnú schopnosť ako kmeň S-23. Slad nemal výrazný vplyv na analyzované parametre.

The aim of this diploma thesis was to prepare and characterize special beers. The influence of malt used (Pilsner, Vienna), herb (peppermint, green tea, black elder), weight of herb (0 g, 4 g, 8 g and 12 g per 3 litres of wort) and strain of yeast used (S-23, W-34/70) on

19.–20. října 2017, Aquapalace Hotel Prague

Největší setkání
obalových profesionálů
v ČR a na Slovensku



OBALKO

ČESKÝ A SLOVENSKÝ OBALOVÝ KONGRES

19. října

Celodenní konference – ochutnávka programu

Dopolední sekce

Jak ve dvou dnech přestěhovat celý cirkus?

Jiří Berousek,
Národní cirkus Originál Berousek

Během dvou dnů se dá stihnout le-
dacos. Třeba zbourat, zabalit, naložit,
přesunout, rozbalit a znovu postavit
nejen cirkusové šapitó, ale i zvěřinec,
zázemi, personál a mnoho dalšího. Jak
vypadá cirkus za oponou?



Bioplasty = budoucnost příštích generací

Lenka Mynářová,
NAFIGATE Corporation



Příběh o tom, jak se z Prahy dostat na
konec světa v tak konkurenčním pro-
středí, jako je vývoj bioplastů, a připravit
tak lepší budoucnost pro celou planetu.
Co vše z této nové technologie vyplývá
pro celý obalový průmysl?



Balení je hrdinou vaší značky

Flore Wouters,
More from Less Brussels

Neexistuje jiné médium, s nímž by měli
spotřebitelé intenzivnější kontakt než
s obalem. Balení je jediným marketin-
govým nástrojem, který zasáhne 100 %
vašich spotřebitelů. Získání toho sprá-
vého nastavení je klíčové.



Marketingová sekce

„Jak zvolit správnou obalovou strategii ke zvýšení prodeje?“

O zvyšování prodeje bylo řečeno mnohé. Co ale můžeme udělat konkrétně? V rámci marketingové sekce vás čeká osm prezentací, které vám ukáží, jak pracovat s velikostí balení, s limitovanými edicemi, instore komunikací a mnohými dalšími nástroji.

Technologická sekce

„Jak zefektivnit výrobní procesy a optimalizovat náklady?“

Nechte se inspirovat a využijte zkušenosti českých i zahraničních společností, jak pracovat s novými technologiemi. Těšit se můžete na osm prezentací, které vám ukáží, jakým způsobem je možné připravit se na méně nákladnou budoucnost.

Chcete se stát partnerem?

Kontaktujte Pavla Kotrbáčka: pavel.kotrbacek@atoz.cz, +420 605 296 739

ZLATÝ PARTNER:

THIMM
Packaging

STŘÍBRNÝ PARTNER
A PARTNER TRÍDĚNÍ:

EKO KOM
AUTOMATIZOVANÁ OBALOVÁ SPOLUPRÁCE

STŘÍBRNÝ PARTNER:

GS1
Czech Republic

OTK GROUP
PRINTING & PACKAGING

BRONZOVÍ PARTNEŘI:

DEUFOL
Packaging, Heat seal.

DS Smith

FANUC

Gablen

Smurfit Kappa

PARTNER NÁPOJŮ:

KARLOVARSKÝ PIVNÍ VODY

PARTNER E-MAILOVÉ KOMUNIKACE:

email kampane

PARTNER TECHNIKY:

PARILLASOUND

SPECIÁLNÍ PARTNER:

Wauy

MEDIÁLNÍ PARTNEŘI:

SB

SL

ZAP

SL

TAP

PHARM

HO RE

Revue

Potravinářský zpravodaj

ŘEZNIČKOVÉ
UZENÁŘSKÉ NOVINY

KVADRO

ORGANIZÁTOR:

Atoz packaging

edumenu
databáze kurzů a studií

education SL

media guru

noviny

papír a celulóza

PI

PrintProgress

QualiFood

svět misku

VYŠŠÍ ODBORNÁ ŠKOLA
OBALOVÉ TECHNIKY
A SPRÁVY ŠKOL A ŠETÍ

beer parameters and the antioxidant activity of the samples. All beers with herbal addition showed an increase in antioxidant activity compared to the control sample without herbal addition. Antioxidant activity of beers with herbal addition decreased from green tea to black elder to peppermint. The highest percentual increase in antioxidant activity (as measured by the ABTS method), by 50.5%, relative to the control sample, was observed in the beer prepared from Pilsner malt wort with the addition of 12 g of green tea fermented by yeast strain S-23. This sample also contained had the highest percentual increase in polyphenol concentration (204.2%). Higher ethanol concentrations (8.9% on average) were achieved in the beer fermented by strain W34/70, which showed better fermentation capacity than the S-23 strain. The malt used had no significant impact on the analyzed parameters.

Bc. Kristína Akbarová (školiťel: Ing. Kristína Markošová, PhD., konzultant: doc. Ing. Martin Rebroš, PhD.)

PICHIA PASTORIS AKO PRODUCENT REKOMBINANTNÝCH ENZÝMOV PICHIA PASTORIS AS A PRODUCER OF RECOMBINANT ENZYMES

Diplomová práca bola zameraná na produkciu enzýmu mangánperoxidáza pomocou expresného systému *Pichia pastoris*. Metylotropné kvasinky *P. pastoris* sa stali atraktívnym expresným hosťom na produkciu rekombinantných proteínov, vďaka vysokej produktivite enzýmov a post-translačným modifikáciám na úrovni eukaryotických organizmov. Enzým mangánperoxidáza patrí medzi fungálne hémové proteíny s rozsiahlym aplikačným potenciálom pri biodegradácii lignínu a štruktúrne rozmanitých organopolutantov kontaminujúcich životné prostredie. Bol úspešne klonovaný a exprimovaný gén, kódujúci mangánperoxidázu pod kontrolou metanolom indukovaného P_{AOX} promótoru, pomocou rekombinantných kvasiniek *P. pastoris*. Optimalizovaná bola scale-up produkcia mangánperoxidázy ako aj koncentrácia hemínu pridávaného do média za účelom syntézy aktívneho biokatalyzátora. Fed-batch fermentáciou kvasiniek s fenotypom MutS sa dosiahlo zvýšenie produktivity enzýmu. Overená bola aj ofarbovacia aktivita enzýmu mangánperoxidáza v prítomnosti syntetických farbív.

The diploma thesis was focused on the production of enzyme manganese peroxidase using expresion system *Pichia pastoris*. Methylotrophic yeast *P. pastoris* became an efficient expression host for recombinant protein production due to its high enzyme productivity and posttranslational modifications performed at the level of higher eukaryotic cells. Manganese peroxidase belongs to fungal heme enzymes with a great application potential for biodegradation of lignin and structurally diverse pollutants contaminating the environment. Gene, encoding manganese peroxidase under the control of methanol inducible P_{AOX} promoter, was succesfully cloned and expressed in recombinant yeasts *P. pastoris*. Scale-up production of recombinant enzyme and concentration of exogenous hemin added in the cultivation media were optimized to improve production of active biocatalyst. Glycerol fed-batch fermentation with MutS strain enhanced the enzyme productivity. Bleaching activity of manganese peroxidase was also tested in the presence of sulfophthalein dyes.

Bc. Eva Babulicová (školiťel: Ing. Katarína Furdíková, PhD., konzultant: Ing. Katarína Ďurčanská)

IZOLÁCIA, CHARAKTERIZÁCIA A SELEKCIA AUTOCHTÓNNYCH KULTÚR SACCHAROMYCES CEREVISIAE VHODNÝCH PRE VINÁRSTVO ISOLATION, CHARACTERIZATION AND SELECTION OF AUTOCHTHONOUS CULTURES SACCHAROMYCES CEREVISIAE SUITABLE FOR WINEMAKING

Diplomová práca bola zameraná na izoláciu, charakterizáciu a selekciu autochtónnych kvasiniek *Saccharomyces cerevisiae*. Z rôznych odrôd viniča (Rulandské šedé, Rulandské biele a dva klony odrody Sauvignon) bolo izolovaných 110 kmeňov kvasiniek. Kombináciou tradičných diagnostických metód a MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry) bolo 27 izolátov identifikovaných ako *S. cerevisiae*. Izolované kmene kvasiniek boli charakterizované z hľadiska technologických vlastností dôležitých pre vinársku prax: osmotolerancia, etanoltolerancia, fermentač-

né vlastnosti, produkcia prchavých látok, sírnych zlúčenín, peny a β -glukozidázová aktivita. Kmeň *S. cerevisiae* RB-NDK-4A1 izolovaný z odrody Rulandské biele produkoval optimálne koncentrácie senzorycky aktívnych látok, preto je najvhodnejším kmeňom pre produkciu vín z tejto odrody a lokality. Kmeň RŠ-NDK-4A1 izolovaný z odrody Rulandské šedé sa vyznačoval najvyššou produkciou 2-fenyletanolu, ktorý je nositeľom kvetinovej, ružovej arómy. Izolácia čistej kultúry kvasiniek z odrody Sauvignon nebola úspešná.

This diploma thesis is focused on isolation, characterization and selection autochthonous yeasts *Saccharomyces cerevisiae*. From different variety of *Vitis vinifera* (Pinot Gris, Pinot Blanc and 2 clones of Sauvignon) 110 strains of yeast were isolated. Using a combination of common diagnostic methods and MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry) 27 isolates were identified as *S. cerevisiae*. The isolated strains were characterized according to their technological properties important for winemaking: ethanol tolerance, osmotolerance, fermentation properties, sulphane production and foam production and production of volatile compounds, β -glucosidase activity. The yeast strain RB-NDK-4A1 isolated from grape Pinot Blanc produced optimal concentration of sensory active compounds; therefore it is the only strain suitable for production of wine of this variety and locality. The yeast strain RŠ-NDK-4A1 (isolated from Pinot Gris) was characterized by highest production of 2-phenylethanol which is typical of flower, rose aroma. Isolation of the pure yeast culture was not successful for Sauvignon variety.

Bc. Patrícia Baumannová (školiťel: doc. Ing. Vladimír Štefuca, PhD.)

VÝVOJ LABORATÓRNYCH METODÍK A VYŠETROVANIE KATALYTICKÝCH VLASTNOSTÍ ENZÝMOV LIPOXYGENÁZOVEJ METABOLICKEJ DRÁHY DEVELOPMENT OF LABORATORY METHODS AND INVESTIGATION OF THE CATALYTIC PROPERTIES OF LIPOXYGENASE METABOLIC PATHWAY ENZYMES

Diplomová práca bola zameraná na vývoj metód a štúdium katalytických vlastností enzýmu hydroperoxidlyáza (HPL), ktorý je súčasťou lipoxygenázovej metabolickej dráhy a premieňa hydroperoxidy polynenasýtených mastných kyselín za vzniku príslušnej oxo-kyseliny a aldehydu. Práca študovala enzým typu 13-HPL, ktorý katalyzuje premenu 13-hydroperoxidu kyseliny linolénovej za vzniku kyseliny 12-oxo-9-dodecénovej a trans-2-hexenal (T2H). Na začiatku práce sa hľadal biologický materiál s vysokou aktivitou HPL, spomedzi testovaného materiálu mala najvyššiu aktivitu zelená mäsitá paprika a listy fazule. Zistilo sa, že najvhodnejšie je skladovať surový enzýmový preparát pri -20°C s prídavkom glycerolu 50 % obj.), pri takýchto podmienkach má surový enzýmový preparát porovnateľnú aktivitu niekoľko dní. Pre purifikovaný enzým zo zelenej mäsitej papriky sa stanovili kinetické parametre, $K_M = 81,9\ \mu\text{M}$ a $V_{\max} = 0,000342\ \mu\text{M}/\text{min}$. Kinetické parametre sa stanovili aj pre purifikovaný enzým z listov fazule, $K_M = 125,13\ \mu\text{M}$ a $V_{\max} = 0,000297\ \mu\text{M}/\text{min}$.

The diploma thesis was focused on the development of methods and the study of catalytic properties of the enzyme hydroperoxide lyase (HPL), which is involved in the lipoxygenase metabolic pathway, and converts hydroperoxides of polyunsaturated fatty acids to the corresponding oxo-acid and aldehyde. The thesis studied the 13-HPL type enzyme which catalyzes the conversion of 13-hydroperoxide of linolenic acid to 12-oxo-9-dodecenoic acid and trans-2-hexenal (T2H). The aim at the beginning was to find suitable biological source of the enzyme with sufficiently high 13-HPL activity. Among the tested materials, the highest activity was found in green pepper and bean leaves. The best enzyme stability was achieved when the crude enzyme preparation was stored at minus 20°C with the addition of 50% glycerol (obj.). Under these conditions the crude enzyme preparation retained comparable activity for several days. Kinetic parameters for the purified enzyme from green pepper were $K_M = 81.9\ \mu\text{M}$ and $V_{\max} = 0.000342\ \mu\text{M}/\text{min}$. Kinetic parameters were also determined for the purified bean leaf enzyme providing $K_M = 125.13\ \mu\text{M}$ and $V_{\max} = 0.000297\ \mu\text{M}/\text{min}$.

Bc. Daniela Bošková (školička: doc. Ing. Katarína Dercová, PhD., konzultantka: Ing. Hana Horváthová)

POTENCIÁL BAKTERIÁLNYCH KONZORCIÍ PRI DEGRADÁCII POLYCHLÓROVANÝCH BIFENYLOV (PCB) POTENTIAL OF BACTERIAL CONSORTIA FOR DEGRADATION OF POLYCHLORINATED BIPHENYLS (PCBS)

Diplomová práca bola zameraná na konštruovanie bakteriálnych konzorcií, pozostávajúcich z autochtónnych baktérií kontaminovaného sedimentu, koexistujúcich v synergii s prirodzenou mikrobiotou a skúmanie ich biodegradačnej účinnosti voči polychlórovaným bifenylovi (PCB). V umelom vodnom systéme malo najvyššiu biodegradáciu PCB bakteriálne konzorcium pozostávajúce z ôsmich kmeňov baktérií (*A. piechaudii*, *A. xylosoxidans*, *B. casei*, *O. anthropi*, *P. Veronii*, *R. ruber*, *S. novella*, *S. maltophilia*), konkrétne rozložilo 72 % sumy kongenérův PCB. Ako najúčinnnejšie bakteriálne konzorcium, použité v bioaugmentácii kontaminovaného sedimentu PCB, sa preukázalo *O. anthropi*, *R. ruber* a *A. xylosoxidans*, ktoré rozložilo viac ako 70 % pôvodného množstva PCB v kontaminovanom sedimente už po prvom týždni kultivácie. Ďalšie účinné bakteriálne konzorcium bolo *B. casei*, *O. anthropi* a *S. maltophilia*, ktoré preukázalo potenciál pre bioaugmentáciu, eliminovalo 65 % sumy kongenérův PCB z kontaminovaného sedimentu.

This diploma thesis was focused on the construction of bacterial consortia consisting of autochthonous bacteria of contaminated sediment, which coexist in synergy with the natural microflora, and the investigation of their biodegradation activity against polychlorinated biphenyl (PCB). In an artificial aquatic system, the highest biodegradation of the PCB was achieved by a bacterial consortium consisting of eight bacterial strains (*A. piechaudii*, *A. xylosoxidans*, *B. casei*, *O. anthropi*, *P. Veronii*, *R. ruber*, *S. novella*, *S. maltophilia*). This consortium decomposed 72% of PCB congeners. The most effective bacterial consortium used in the bioaugmentation of contaminated PCB sediment was *O. anthropi*, *R. ruber* and *A. xylosoxidans*, which decomposed more than 70% of the original amount of PCBs in the contaminated sediment already after the first week of cultivation. Another effective bacterial consortium was *B. casei*, *O. anthropi* and *S. maltophilia*, which showed the potential for bioaugmentation, eliminated 65 % of the sum of PCB congeners from the contaminated sediment.

Bc. Ján Bujnovský (školička: doc. Ing., Daniela Šmogračová, PhD., konzultant: Ing. Júlia Čaplová)

CHARAKTERIZÁCIA PÍV PRIPRAVENÝCH Z RÔZNYCH CHMELOV THE CHARACTERIZATION OF BEERS PREPARED FROM DIFFERENT HOP VARIETIES

Diplomová práca skúmala vplyv rôznych odrôd chmeľu a kmeňov kvasiniek na vlastnosti pív. Použilo sa osem odrôd chmeľu (Žatecký poloraný červeňák, Premiant, Sládek, Magnum, Tettnanger, Hallertau mittelfrüh, Spalt select, Pacific Jade) a štyri druhy kvasiniek (Saflager S-23, Saflager W 34/70, BrewMaster Pilsner Style Yeast, Mangrove Jacks M84 Bohemian Lager). Kvasinky Saflager S-23 a Saflager W 34/70 prekvasili počas fermentácie o 22 % redukujúcich sacharidov (o 10,3 g/l) viac než kvasinky BrewMaster Pilsner Style Yeast a Mangrove Jacks M84 Bohemian Lager. Pivá pripravené z chmeľov odrôd Tettnanger, Žatecký poloraný červeňák a Hallertau mittelfrüh preukazovali po ukončení fermentácie o 26 %, 20 % a 10 % (77 mg/l, 58 mg/l a 28 mg/l) vyššie koncentrácie polyfenolov voči priemernej hodnote. Pivá kvasené kvasinkami Saflager S-23 obsahovali v priemere o 25 % viac etanolu (4,5 % v/v) ako pivá kvasené kvasinkami Mangrove Jacks M84 Bohemian Lager (3,3 % obj.).

The diploma thesis examined the influence of different hop varieties and yeast strains on the characteristics of beers. Eight hop varieties (Žatecký poloraný červeňák, Premiant, Sládek, Magnum, Tettnanger, Hallertau mittelfrüh, Spalt select, Pacific Jade) and four yeast strains (Saflager S-23, Saflager W 34/70, BrewMaster Pilsner Style Yeast, Mangrove Jacks M84 Bohemian Lager) were used. Saflager S-23 and Saflager W 34/70 have fermented 22 % more reducing carbohydrates (10.3 g/l) than BrewMaster Pilsner Style Yeast and M84 Bohemian Lager Mangrove Jacks. Beers prepared from hops variety Tettnanger, Žatecký poloraný červeňák a Hallertau mittelfrüh showed 26%, 20% and 10% (77 mg/l, 58 mg/l and 28 mg/l) higher concentrations of polyphenols compared to average values.

Beers fermented by yeast Saflager S-23 contained at average 25% more ethanol (4.5% v/v) than beers fermented by yeast Mangrove Jacks M84 Bohemian Lager (3.3% v/v).

Bc. Tereza Drtilová (školička: Ing. Katarína Furdíková, PhD., konzultant: Ing. Lucia Bajnociová)

VPLYV ČISTÝCH KULTÚR SACCHAROMYCES CEREVISIAE NA PROFIL PRCHAVÝCH LÁTOK V ODRODOVOM VÍNE TRAMÍN ČERVENÝ INFLUENCE OF PURE CULTURES OF SACCHAROMYCES CEREVISIAE ON PROFILE OF VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS IN VARIETAL GEWÜRZTRAMINER WINE

Diplomová práca sa zaoberala vplyvom čistých kultúr kvasiniek *Saccharomyces cerevisiae* na profil prchavých látok v odrodovom víne Tramín červený. Na porovnanie vývoja látok primárnej a sekundárnej arómy a posúdenie vplyvu kmeňa kvasiniek bol hroznový mušt a YD médium fermentované dvoma autochtónnymi kmeňmi TC-NDK-DP2 a TC-NDK-DP3 a komerčným kmeňom kvasiniek *Oenoferm belle arome F3*. Signifikantné rozdiely vo vývoji látok nastali medzi autochtónnymi kmeňmi a komerčným kmeňom. Komerčný kmeň *Oenoferm belle arome F3* produkoval nižšie relatívne koncentrácie ako kmeň TC-NDK-DP2 a TC-NDK-DP3. Porovnaním YD média a muštu *Oenoferm belle arome F3* produkoval vyššie relatívne koncentrácie prchavých látok v YD médiu. Tento trend bol pri autochtónnych kmeňoch opačný. Zlúčeniny boli najintenzívnejšie produkované v prvých troch dňoch fermentácie. Ich vývoj prebiehal lineárne, alebo v dvoch stupňoch s rôznou dĺžkou stacionárnu fázou. V postfermentačnej fáze (12.–30. deň) väčšina zlúčenín stagnovala alebo mierne narástla. Vo všetkých vínach a v mušte bol identifikovaný *cis*-rose oxid, charakteristický pre odrodu Tramín červený. Najvyššie relatívne koncentrácie látok boli produkované kmeňom TC-NDK-DP2. Tento kmeň bol aj na základe senzorickej analýzy vín vyhodnotený ako najvhodnejší.

Diploma thesis was focused on the influence of pure cultures of *Saccharomyces cerevisiae* on profile of volatile organic compounds in varietal wine Gewürztraminer. To compare development of primary and secondary volatile compounds and to consider the effect of yeast strain, grape must and YD medium were fermented with two autochthonous strains *S. cerevisiae* TC-NDK-DP2 and TC-NDK-DP3 and one commercial strain *Oenoferm belle arome F3*. Significant differences in substance development occurred between autochthonous strains and commercial strain. The commercial strain of *Oenoferm belle arome F3* produced lower relative concentrations of volatile compounds than strains TC-NDK-DP2 and TC-NDK-DP3. Comparing YD medium and grape must, *Oenoferm belle arome F3* produced higher relative concentrations of VOCs in YD medium. For autochthonous strains this trend was inverse. Investigated volatile compounds were most intensively produced in the first three days of fermentation. Their development was linear or in two stages with a different long stationary phase. In post-fermentation phase (12th – 30th day) most of the compounds stagnated or slightly increased. In all wines and must, *cis*-rose oxide as a feature of Gewürztraminer was identified. The highest relative concentrations of investigated substances were produced by strain TC-NDK-DP2. This strain was assessed as the most suitable also in term of sensory analysis.

Bc. Tatiana Filipová (školička: Ing. Tatiana Klempová, PhD., konzultant: doc. Ing. Milan Čertík, PhD.)

VYUŽITIE ACTINOMUCOR ELEGANS NA PRODUKCIU LIPIDOV A ENZÝMOV POLOSUCHÝMI KULTIVÁCIAMI APPLICATION OF ACTINOMUCOR ELEGANS ON PRODUCTION OF LIPIDS AND ENZYMES IN SOLID-STATE FERMENTATIONS

Cieľom tejto diplomovej práce bolo štúdium využitia vláknitej huby *Actinomucor elegans* na produkciu polynenasýtených mastných kyselín, hlavne kyseliny γ -linolénovej procesom polosuchých fermentácií. Práca sa zamerala na skrining substrátov – obilniny a strukoviny. Najlepším obilninovým substrátom sa preukázali pšeničné otruby s produkciou 13 % kyseliny γ -linolénovej zo všetkých mastných kyselín. Obsah kyseliny γ -linolénovej bol 3,433 mg/g bioproduktu. Ďalším cereálnym substrátom, kde sa analyzovala produkcia kyseliny γ -linolénovej, bol kukuričný odpad. Kultiváciou s kmeňom

A. elegans sa substrát obohatil o 8 % kyseliny γ -linolénovej, čo činilo 2 mg/g bioproduktu. Zo strukovínových substrátov bola najvhodnejšia fazuľa, ktorá bola obohatená o kyselinu γ -linolénovú najviac. Obsah kyseliny γ -linolénovej sa zvýšil o 5 % v porovnaní so substrátom, na ktorom nerástol produkčný kmeň *A. elegans* a predstavoval 17,843 mg/g bioproduktu.

The aim of this thesis was to study an application of microbial strain *Actinomucor elegans* on production of γ -linolenic acid in solid state fermentations. The work was focused on screening of various substrates – cereals and legumes substrates. The best of cereal substrates were wheat brans with production 13% of γ -linolenic acid. The amount of γ -linolenic acid was 3.433 mg/g of bioproduct. The second cereal substrates with good production of γ -linolenic acid was corn waste. Corn waste was enriched with γ -linolenic acid. Production increased in 8%, it was 2 mg/g of bioproduct. The best from legumes substrates was bean, which was enriched with γ -linolenic acid. Production of γ -linolenic acid increased in 5% by comparison with bean substrate, where microbial strain *A. elegans* did not grow. The amount of γ -linolenic acid was 17.843 mg/g of bioproduct.

Bc. Martina Gamanová (školiťel: doc. Ing. Martin Rebroš, PhD., konzultant: Ing. Vladimír Krasňan)

FERMENTAČNÁ PRÍPRAVA KYSELINY JANTÁROVEJ FERMENTATION PRODUCTION OF SUCCINIC ACID

V súčasnosti sa do záujmu mnohých vedeckých tímov dostáva kyselina jantárová, vďaka jej jedinečným vlastnostiam. Je prekurzorom výroby širokej škály látok a má využitie vo farmácii, potravinárstve a mnohých ďalších odvetviach priemyslu. Ako vhodný substrát na jej prípravu sa javí glycerol. So snahou využitia alternatívnych zdrojov energie dochádza vo svete k jeho kumulácii, ako vedľajšieho produktu z výroby bionafty. Práca bola zameraná na využitie glycerolu ako substrátu na fermentačnú prípravu kyseliny jantárovej pomocou baktérie *Actinobacillus succinogenes* a optimalizáciu podmienok fermentácie. Uskutočnením experimentov v baničkách sa optimalizovala príprava inokula, kde bolo vybrané Carvalho inokulačné médium. Ďalej bolo optimalizované produkčné médium. Z experimentov vo fermentoroch bol vybraný čistý oxid uhličitý na prebublávanie s prietokom plynu 0,5 s.dm⁻³.h⁻¹.

Nowadays, the main interest of many scientific institutions becomes succinic acid, because of its special properties. As an intermediate wide range of chemicals takes place in pharmacy, food and many others industries. Glycerol is appeared as appropriate substrate for its production. With an increasing effort of using alternative sources of energy, as a byproduct of biodiesel production, a worldwide problem of its accumulation is emerging. The aim of this thesis was fermentative production of succinic acid with glycerol as a substrate by bacterium *Actinobacillus succinogenes* and to optimize conditions of fermentation. Optimization of preparing inoculum was testing in banks, the Carvalho inoculation medium was chosen. Production medium was also studied. Carbon dioxide was chosen as a gas for sparging fermentors with gas flow 0.5 s.dm⁻³.h⁻¹.

Bc. Dominika Ivančíková (vedúca práce: doc. Ing. Daniela Šmogrovičová, PhD., konzultant: Ing. Dušan Bachár – Heineken; Ing. Jana Lakatošová, PhD. – NPPC Výskumný ústav potravinársky)

VPLYV PET FLAŠE A PODMIENOK SKLADOVANIA NA KVALITU PIVA EFFECT OF PET BOTTLE AND STORAGE CONDITIONS ON BEER QUALITY

Cieľom práce bolo zistiť zmenu kvality piva počas skladovania v troch rôznych PET fľašiach, ktoré mali hmotnosť 38,9 g, 39,9 g a 40,9 g (referenčný obal), pri teplote 20 °C a 30 °C, v priebehu doby trvanlivosti piva, t.j. počas 4 mesiacov. Kvalita a stabilita piva bola najviac ovplyvnená vyššou teplotou skladovania. Kvalita piva sa najviac zmenila v PET fľaši, ktorá mala hmotnosť 38,9 g a bola skladovaná pri teplote 30 °C. Koncentrácia kyslíka sa zvýšila 11,2-násobne, koncentrácia oxidu uhličitého sa znížila 1,5-násobne, zákal sa zvýšil 9,2-násobne a farba sa zvýšila 1,6-násobne. Koncentrácia biacetylu sa zvýšila 10,6-násobne a koncentrácia 2,3-pentadiónu sa zvýšila 3,8-násobne. Koncentrácia acetaldehydu, izopentanolu, 2-metyl-1-propanolu a etylacetátu sa počas skladovania významne nezmenila. Koncentrácia izopentylacetátu sa zvýšila, presiahla prahovú hodnotu (1,2 – 2 mg/l) vo všetkých PET fľašiach a pri každej

teplote skladovania. Najlepšia kvalita piva sa zachovala v PET fľaši, ktorá mala hmotnosť 40,9 g, pri teplote skladovania 20 °C.

The aim of the thesis was to determine changes in beer quality during storage in three different PET bottles weighing 38.9 g; 39.9 g and 40.9 g (reference package) at 20 °C and 30 °C, during the shelf life of the beer, for 4 months. The quality and stability of beer were the most affected by higher storage temperature. The beer quality was mostly changed in the PET bottle weighing 38.9 g, stored at 30 °C. In this bottle, oxygen concentration increased 11.2 times, carbon dioxide concentration decreased 1.5-times, turbidity increased 9.2-times and color increased 1.6-times. The concentration of biacetyl increased 10.6 times and the concentration of 2,3-pentadiene increased 3.8 times. Acetaldehyde, iso-pentanol, 2-methyl-1-propanol, and ethyl acetate concentrations have not changed significantly during beer ageing. Iso-pentyl acetate concentration has increased, and exceeded the threshold (1.2 – 2 mg/l) in all PET bottles and both storage temperatures. The best beer quality was preserved in a PET bottle weighing 40.9 g, stored at 20 °C.

Bc. Natália Jeriga (školiťel: doc. Ing. Milan Čertík, PhD., konzultant: Ing. Peter Gajdoš, PhD.)

UTILIZÁCIA ODPADOVÝCH TUKOV KVASINKOU YARROWIA LIPOLYTICA UTILIZATION OF RESIDUAL FATS BY YEAST YARROWIA LIPOLYTICA

Cieľom práce bolo zužitkovanie odpadových tukov kvasinkou *Yarrowia lipolytica* na prípravu rôznych látok mikrobiálnou cestou. Živočíšne tuky sú vedľajším produktom mäso-spracovateľského priemyslu, ktoré sa ťažko zhodnocujú a ťažko sa s nimi narába. Produkcia erytritolu je v dnešnej dobe veľmi významná, nakoľko sa používa ako sladidlo, ktoré má najnižšiu energetickú hladinu a glykemický index a je bez vedľajších účinkov na tráviaci trakt. Pri práci sme overovali schopnosť využitia odpadových tukov *Y. lipolytica* vhodného detergentu na emulzifikáciu tuku. Optimálna koncentrácia odpadového tuku v médiu bola 3% s detergentom Tween 20. Na základe tohto overenia sme porovnávali vplyv chloridu sodného na rast a produkciu sekundárnych metabolitov *Y. lipolytica*. Najlepšie výsledky sme dosiahli s prídavkom NaCl do kultivačného média s koncentráciou 3%, kde kmeň produkoval 8,4 g/l biomasy, 2,8 g/l masných kyselín, 1,3 g/l erytritolu a 4,4 g/l kyseliny citrónovej.

The aim of this diploma thesis was to utilize waste fats by yeast *Yarrowia lipolytica* for production of various substances by microbial way. Animal fats are secondary products of the meat-processing industry, which are complicated to evaluate and difficult to handle. Nowadays, the production of the erythritol is very significant, it is used for sweetener, which has the lowest energy level and glycemic index and it exists without digestive system side effects. The ability of *Y. lipolytica* to utilize waste fats and the ability of the right detergent for fat emulsion have been examined. The optimal concentration of waste fats was 3% with detergent Tween 20. Based on this examination we have compared the influence of sodium chloride on the growth and production of secondary metabolites of *Y. lipolytica*. The best results have been achieved by addition of NaCl to culture medium with 3 % concentration where the strain has produced 8.4 g/l biomass, 2.8 g/l fatty acid, 1.3 g/l erythritol and 4.4 g/l citric acid.

Bc. Martina Kalivodová (školiťel: Ing. Helena Hronská, PhD.)

CHEMOENZYMATICKÁ PRÍPRAVA VYBRANÝCH CHROMOGENNÝCH SUBSTRÁTOV CHEMOENZYMATIC SYNTHESIS OF SELECTED CHROMOGENIC SUBSTRATES

Glykozidy sú organické zlúčeniny zložené z cukornej zložky – glykónu a necukornej zložky – aglykónu. V prírode sa vyskytujú ako α - alebo β -anoméry v závislosti od glykozidickej väzby. Enzymatická príprava glykozidov má v porovnaní s chemickou syntézou viaceré výhody. Cieľom bolo pripraviť čisté anoméry týchto látok s vysokým stupňom čistoty, čo môžu zabezpečiť enzýmy svojou vysokou regio- a stereospecificitou. Enzýmy využívané na syntézu glykozidov sú glykozidtransferázy, glykozidsyntetázy alebo glykozidhydrolázy. Najvyužívanejšie sú práve glykozidázy, ktoré katalyzujú hydrolýzu glykozidových väzieb transglykozyláciou alebo reverznou hydrolýzou. Glykozidázy sú distribuované v rôznych organizmoch. V závislosti od mikrobiálneho zdroja dokážu štiepiť rôzne druhy substrátov. Táto

diplomová práca sa zaoberá prípravou vybraných chromogénnych a fluorogénnych substrátov kombináciou chemických a enzymatických procesov.

Glycosides are organic compounds composed of a sugar component – glycone and a non-sugar component – aglycone. In nature they occur as α - or β -anomers depending on the glycosidic bond. Enzymatic preparation of glycosides has several advantages over chemical preparation. The goal was to prepare pure anomers of these substances with a high degree of purity that can be provided by the enzymes with high regio- and stereo-specificity. Enzymes used for the synthesis of glycosides are glycosidase transferases, glycoside synthases or glycoside hydrolases. The most commonly used are glycosidases that catalyze the hydrolysis of glycoside bonds by transglycosylation or reverse hydrolysis. Glycosidases are distributed in various organisms. Depending on the microbial source, they are able to digest different types of substrates. This diploma thesis deals with the preparation of selected chromogenic and fluorogenic substrates by the combination of chemical and enzymatic processes.

Bc. Veronika Kazimírová (školiciteľ: doc. Ing. Martin Rebroš, PhD., konzultant: Ing. Kristína Markošová, PhD.)

REKOMBINANTNÁ PRÍPRAVA HYDROPEROXID LYÁZY RECOMBINANT PREPARATION OF HYDROPEROXIDE LYASE

Táto diplomová práca bola zameraná na produkciu rekombinantného enzýmu hydroperoxid lyáza (HPL). HPL katalyzuje premenu 13-hydroperoxylinolénovej kyseliny na kyselinu 12-oxo-dodekánovú a cis-3-hexenal, ktorý izomerizuje na stabilnejší trans-2-hexenal. Obidva tieto aldehydy sa vyznačujú vysokou senzoricou aktivitou a v parfumérskom priemysle patria k predstaviteľom zelených tónov. Využitím rekombinantného produkčného organizmu (*Escherichia coli*) bolo možné uskutočniť produkciu enzýmu mikrobiálnou cestou, ktorý sa inak v prírode nachádza len v rastlinách a v malých koncentráciách. Experimentálna časť tejto diplomovej práce bola zameraná na optimalizáciu produkcie HPL, jej izoláciu a optimalizáciu biotransformačnej reakcie, ktorú katalyzuje.

This diploma thesis was focused on the production of recombinant enzyme hydroperoxide lyase (HPL). HPL catalyzes the conversion of 13-hydroperoxylinolenic acid to 12-oxo-dodecenoic acid and cis-3-hexenal, which isomerizes to more stable trans-2-hexenal. Both of these aldehydes are characterized by high sensoric activity and they carry green notes in perfume industry. Using a recombinant production organism (*Escherichia coli*) it was possible to perform the microbial production of this enzyme, which occurs in nature only in small amounts in plants. Experimental part of this master thesis is focused on optimization of the production and isolation of HPL and on optimization of its biotransformation reaction.

Bc. Diana Kmeťková (školiciteľ: Ing. Katarína Furdíková, PhD.)

VPLYV ČISTEJ KULTÚRY SACCHAROMYCES CEREVISIAE NA PRIMÁRNU ARÓMU VÍNA EFFECT OF PURE CULTURE OF SACCHAROMYCES CEREVISIAE ON THE PRIMARY AROMA OF WINE

Aróma je jednou zo senzoricých vlastností, ktoré určujú kvalitu vína. Prekurzory prchavých látok výrazne prispievajú k aromatickému profilu. Zvyčajne sa nachádzajú v hrozne ako voľné a viazané na sacharidy, pričom vo viazanej forme sú aromaticky neaktívne. Počas hydrolýzy glykozidov dochádza k uvoľňovaniu prchavých aromatických zlúčenín, čím sa do značnej miery ovplyvňuje odrodový charakter vína v priebehu alkoholovej fermentácie. Cieľom tejto práce bolo stanovenie β -glukozidázovej aktivity vybraných kmeňov kvasiniek izolovaných z odrody Tramin červený a komerčného kmeňa *Oenoferm Belle Arome*. Enzymatická aktivita bola vyjadrená ako množstvo uvoľneného 4-nitrofenolu vzniknutého za časovú jednotku po hydrolýze substrátu 4-nitrofenyl- β -D-glukopyranozidu. Celkové terpenoidy po pridaní komerčného enzýmu β -glukozidáza k analyzovaným vzorkám vína boli stanovené HS-SPME-GC/MS-TOF. Relatívna koncentrácia väčšiny terpenoidov v procese fermentácie klesala. Dôvodom je prudký stripping oxidom uhličitým počas fermentácie a transformácia terpenov na zlúčeniny s rozdielnymi chemickými vlastnosťami.

Aroma is one of the most important sensory properties that determine quality of wine. Volatile precursors considerably contribute to aroma profile of wine. They are typically found in grape both as free and bound to a sugar. Bounded, these compounds are not odour active. Volatile aromatic compounds are released during the hydrolysis of glycosides, which greatly affects the varietal aroma of wine during alcoholic fermentation. The aim of this work was to determine β -glucosidase activity of selected yeast strains isolated from grapes of Gewürztraminer variety and commercial strain *Oenoferm Belle Arome*. Enzymatic activity was expressed as the amount of released 4-nitrophenol produced in time after hydrolysis of the substrate 4-nitrophenyl- β -D-glucopyranoside. Total amount of terpenoids were determined after adding the commercial enzyme β -glucosidase to the analyzed wine samples and determined by HS-SPME-GC/MS-TOF. The relative concentration of most terpenoids decreased during the fermentation process. The reason is the rapid stripping by carbon dioxide during fermentation and transformation of terpenoids into compounds with different chemical properties.

Bc. Ivana Kobylinská (školiciteľ: doc. Ing. Vladimír Štefuca, PhD.)

ŠTÚDIUM KINETIKY PRÍPRAVY PRÍRODNÝCH ARÓM NA BÁZE ESTEROV POMOCOU LIPÁZ STUDY OF KINETICS OF NATURAL AROMAS MADE FROM ESTERS WITH LIPASES

Práca bola zameraná na štúdium reakcií prípravy prírodných aróm pomocou transesterifikačných reakcií katalyzovaných imobilizovanou lipázou B z *Candida antarctica*. Cieľom práce bol návrh vhodného kinetického modelu pre reakciu transesterifikácie etylbutyrátu cis-3-hexenolom katalyzovanej imobilizovaným enzýmom so zahrnutím javov inhibície a reakčnej rovnováhy. Meraním začiatkových rýchlostí sme zistili, že lipáza B podlieha konformačným zmenám vyvolaným substrátmi reakcie, aktivujúcich enzým. Preto sme tento jav zahrnuli do kinetického modelu vo forme Hillovej modifikácie. Priebehové kinetické merania boli najlepšie opísané ping-pongovým mechanizmom dvojsubstrátovej reakcie v priamom aj vratnom smere.

This work was focusing on the study of reactions of natural aromas made from transesterification reactions with lipase B obtained from *Candida antarctica*. The aim of the thesis is to determine a suitable kinetic model for the transesterification reaction of cis-3-hexenol and ethylbutyrate catalyzed by the immobilized enzyme, including the phenomenon of inhibition and reaction equilibrium. Measuring the initial velocities, we have found that lipase B is undergoing conformational changes induced by activated substrates of the reaction. Therefore, we have included this phenomenon into kinetic model Hill's modification. Kinetic measurements were best fit by ping-pong mechanism of bi-substrate reaction in direct and reverse directions.

Bc. Zuzana Kolcúnová (školiciteľ: doc. Ing. Vladimír Štefuca, CSc., konzultant: Ludmila Krištofiková, prom. chem.)

VÝVOJ A OPTIMALIZÁCIA METÓD KULTIVÁCIE DUSÍK FIXUJÚCICH BAKTÉRIÍ DESIGN AND OPTIMIZATION OF CULTURE METHODS FOR NITROGEN-FIXING BACTERIA

V snahe eliminovať negatívny dopad chemických hnojív na životné prostredie, zvyšuje sa záujem o mikrobiálne hnojivá. K nim patrí aj aplikácia mikrobiálnej biomasy rôznych druhov pôdných mikroorganizmov. Diplomová práca bola zameraná na prípravu biomasy pôdných baktérií pôsobiacich ako biofertilizéry (podporujúce rast a vývin rastlín), sledovaný bol aj vplyv podmienok skladovania na ich viabilitu. Uskutočnil sa výber kultivačného média pre dusík fixujúce baktérie *Azotobacter chroococcum* a *Azospirillum brasilense*. Zistilo sa, že najlepšie médium pre kultiváciu dusík fixujúcich baktérií je médium YEM. Po selekcii dôležitých faktorov, (glukóza, kvasničný extrakt, FeSO_4) bolo jeho zloženie optimalizované metódami plánovaného experimentu. Metódou povrchovej odozvy boli získané optimálne hodnoty faktorov pri ktorých sa dosiahol o 1,83-krát vyšší nárast biomasy dusík fixujúcej baktérie *A. chroococcum*.

Due to effort to eliminate the negative impact of chemical fertilizers on the environment, current research focuses on microbial fertilizers. These include the application of microbial biomass of various species of soil microorganisms. This diploma thesis was focused on pre-

paration of the biomass soil bacteria acting as biofertilizers (promoting growth and development of plants), and the effect of storage conditions on their viability was monitored. The suitable culture medium for nitrogen-fixing bacteria *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum brasiliense* was selected. It has been found that the best medium for the cultivation of nitrogen-fixing bacteria is the YEM medium. After selection of important factors (glucose, yeast extract, FeSO_4), its composition was optimized by the methods of the planned experiment. By the response surface methodology were obtained optimum values of the factors, which have been achieved 1.83 times higher growth of biomass of nitrogen-fixing bacteria *A. chroococcum*.

Bc. Ivana Konečná (školiťel: doc. Ing. Katarína Dercová, PhD., konzultant: Ing. Slavomíra Murínová, PhD.)

**IZOLÁCIA BAKTÉRIÍ ZO SEDIMENTOV
KONTAMINOVANÝCH POLYCYKlickÝMI
AROMATICKÝMI UHLOVODÍKMI (PAH) A ICH VYUŽITIE
PRI BIODEGRADÁCII PAH
ISOLATION OF BACTERIA FROM CONTAMINATED
SEDIMENTS BY POLYCYCLIC AROMATIC
HYDROCARBONS (PAH) AND THEIR USE IN
BIODEGRADATION OF PAH**

Diplomová práca sa zaoberala izoláciou mikroorganizmov z kontaminovaných sedimentov, ktoré majú schopnosť degradovať polycyklické aromatické uhľovodíky (PAH). Sedimenty bolo odobraté z rieky Slatina, z kontaminovaného miesta blízko mesta Zvolen. V tejto oblasti je vysoko vyvinutý drevársky a strojársky priemysel, čo pravdepodobne zapríčinilo vysoký obsah PAH v týchto prírodných zložkách. Pomocou kultivačnej metódy sa izolovalo 18 autochtónnych bakteriálnych kmeňov, z ktorých boli vybraté dva najlepšie rastúce kmene a následne použité na štúdium biodegradácie PAH kongénov v kvapalnom médiu. Na dosiahnutie zvýšenia degradácie aktivity vybraných kmeňov v kvapalnom médiu bol použitý prídavok bakteriálneho surfaktantu a prírodných materiálov (brečtanové listy, borovicové ihličie). Aplikácia prírodných materiálov sa ukázala ako vhodnejšia možnosť za účelom dosiahnutia zvýšenej biodegradácie PAH. S využitím ihličia ako prírodnej stimulujúcej látky, degradácia fenantrenu kmeňom *Rhodococcus erythropolis* bola 5-krát vyššia a kmeňom *Flavobacterium* sp. až 9-krát vyššia v porovnaní s degradáciou bez použitia tejto látky.

This diploma thesis was focused on isolation microorganisms from contaminated sediments, supposed to have the ability to degrade polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH). The sediments were sampled from river Slatina, the contaminated site near town Zvolen. In this area is highly developed wood and engineering industry, which probably caused the high PAH content in these natural components. Eighteen autochthonous bacterial strains were selected by the cultivation method, and two best growing strains were chosen and subsequently used to study the biodegradation of PAH congeners in a liquid medium. An addition of bacterial surfactant (rhamnolipid) and natural materials (ivy leaves, pine needles), was used to increase the degradation activity of selected strains in the liquid medium. The application of natural materials has proven to be a more appropriate option in order to achieve increased PAH biodegradation. With the pine needles as a natural stimulant, phenanthrene degradation was up to 5 times higher by strain *Rhodococcus erythropolis* and up to 9 times higher using strain *Flavobacterium* sp. compared to degradation without this stimulant.

Bc. Monika Krausková (školiťel Ing. Katarína Furdíková, konzultant Ing. Lucia Bajnociová)

**VPLYV ČISTEJ KULTÚRY SACCHAROMYCES
CEREVISIAE NA PRCHAVÝ PROFIL ODRODOVÉHO VÍNA
RIZLING RÝNSKY
INFLUENCE OF THE PURE CULTURE OF
SACCHAROMYCES CEREVISIAE ON THE AROMATIC
PROFILE SUBSTANCES IN VARIETAL WINE RIESLING**

Táto práca sa venovala prchavým aromatickým látkam podieľajúcich sa na aróme Rizlingu rýnskeho. Analyzoval sa hrozňový mušt a vína fermentované pomocou autochtónnej a komerčnej čistej kultúry kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. Aromatický profil bol ana-

lyzovaný pomocou komprehesívnej dvojrozmernej plynovej chromatografie. Zistilo sa, že v hrozňovom mušte bol oproti vínam niekoľko násobne nižší počet esterov. Karbonylové zlúčeniny v testovaných vzorkách vín klesli o 70 až 90 %. Identifikovali sa terpenoidy podieľajúce sa na charakteristickej aróme Rizlingu rýnskeho a to: α -terpineol, β -damascenón citranelol, linalol, nerol a 1,1,6-Trimetyl-1,2-dihydronaftalén. Spomedzi vyšších alkoholov, najvyššiu relatívnu koncentráciu mal izoamylalkohol a fenyletylalkohol. Prchavé sírne zlúčeniny boli identifikované len v analyzovaných vínach.

This thesis was focused on volatile compounds forming aromatic profile of Riesling. Grape must and wine, which were fermented by autochthonous, commercial and pure culture yeast *Saccharomyces cerevisiae* has been analysed by comprehensive two-dimensional gas chromatography. The grape must contained significantly less esters compared to wine. Carbonyl compounds in test samples of wine decreased by 70 to 90%. Terpenoids taking part in the characteristic aroma of Riesling included: α -terpineol, β -damascenón citranelol, linalol, nerol and TDN have been identified. The highest relative concentration of fusel alcohols included isoamyl alcohol and phenethyl alcohol. Volatile sulfur compounds have been detected only in wines.

Bc. Katarína Masárová (školiťel: doc. Ing. Milan Čertík, PhD., konzultant: Ing. Peter Gajdoš, PhD.)

**KONŠTRUKCIA REKOMBINANTNÝCH KVASINIEK PRE
PRODUKCIU BIOPALÍV
CONSTRUCTION OF RECOMBINANT YEAST FOR
BIOFUEL PRODUCTION**

Yarrowia lipolytica je nepatogénna ascomycétna tukotvorná kvasinka, ktorá je veľmi odlišná od často skúmaných kvasiniek vzhľadom na svoju fyziológiu, genetiku a molekulárnu biológiu. Má uplatnenie v genetike, molekulárnej biológii, ale aj v potenciálnych priemyselných aplikáciách pre produkciu lipofilných metabolitov. *Y. lipolytica* má sekvenovaný celý genóm a má k dispozícii početné genetické nástroje. Táto práca bola zameraná na vytvorenie PUT (promoter-terminator) dizrupčnej kazety a na deláciu *FAD2* génu z auxotrofného kmeňa Po1d kvasinky *Y. lipolytica*. Úspešnosť delácie sa overovala na úrovni metabolitov analýzou mastných kyselín. Zistilo sa, že delečný kmeň Po1d $\Delta fad2$ tvoril väčšie množstvo kyseliny olejovej (77,4 %), a naopak netvoril žiadnu kyselinu linolovú. Ďalej sa práca zaoberala inzerciou *FAE1* génu do delečného Po1d kmeňa. Úspešne sa získal plazmid nesúci optimalizovaný *FAE1* gén, ktorý sa môže v budúcnosti využiť na prípravu prototrofného Po1d kmeňa z kvasinky *Y. lipolytica*. Tento mutant by bol schopný premieňať kyselinu olejovú na kyselinu erukovú.

Yarrowia lipolytica is a non-pathogenic ascomycetes oleaginous yeast that is very different from the often investigated yeasts due to its physiology, genetics and molecular biology. This yeast has been found to be useful in genetics and molecular biology as well as in potential applications for production of lipophilic metabolites. *Y. lipolytica* has a sequenced whole genome and numerous genetic tools based on this strain have been prepared. This work has been focused on the creation of the PUT (promoter-terminator) disruption cassette and on the deletion of the *FAD2* gene from the auxotrophic strain Po1d of *Y. lipolytica* yeast. The success of the deletion was verified at metabolite level by analysis of fatty acids. The deletion strain Po1d $\Delta fad2$ was found to contain more oleic acid (77.4%) and did not form any linoleic acid. The thesis was focused also on insertion of the *FAE1* gene into the deletion Po1d strain. A plasmid carrying optimized *FAE1* gene was obtained that can be used in the future to produce a prototrophic Po1d strain from *Y. lipolytica* yeast. This mutant would be able to convert oleic acid to erucic acid.

Bc. Katarína Michňová (školiťel: doc. Ing. Milan Čertík, PhD., konzultant: Ing. Tatiana Klempová, PhD.)

**BIOTECHNOLOGICKÉ ZHODNOTENIE ODPADOVÝCH
OLEJOV HUBOU MORTIERELLA ALPINA
BIOTECHNOLOGICAL EVALUATION OF WASTE OILS
USING MICROBIAL STRAIN MORTIERELLA ALPINA**

Diplomová práca sa zaoberala možnosťou biotechnologického spracovania odpadových substrátov akými sú kafíľeré tuky alebo použité odpadové oleje vláknitou hubou *Mortierella alpina*. *Mortierella*

la alpina je tukotvorný mikroorganizmus schopný dobre rásť na rôznych lipofilných substrátoch a zároveň produkovať biologicky aktívne polynenasýtené mastné kyseliny, a to najmä kyselinu arachidónovú, ktorá nachádza uplatnenie v potravinárskom, výživovom, krmovinárskom i farmaceutickom priemysle. Použitie odpadového oleja a kafilérneho tuku ako zdrojov uhlíka v médiu viedlo k približne 5,5-násobnému urýchleniu rastu kmeňa *Mortierella alpina* CCF 2861, avšak zároveň spomalilo biosyntézu kyseliny arachidónovej, a to až 5-násobne. Prídavok fosforečnanových iónov tento problém čiastočne vyriešil, biosyntéza kyseliny arachidónovej sa zrýchlila 2,5-násobne. Na základe získaných údajov sa stanovilo zloženie ideálneho média na produkciu kyseliny arachidónovej.

This diploma thesis dealt with the possibility of biotechnological treatment of waste products, such as rendered fats or waste cooking oils by fungus *Mortierella alpina*. *Mortierella alpina* is an oleaginous microorganism capable of growing well on different lipophilic substrates while producing biologically active polyunsaturated fatty acids and especially arachidonic acid, which is used in the food, nutrition, animal feed and pharmaceutical industry. Use of waste cooking oil and rendered fat as carbon sources in the medium has led to an approximately 5.5 times better growing speed of strain *Mortierella alpina* CCF 2861, but at the same time the arachidonic acid biosynthesis was 5 times slower. Addition of phosphate partially solved this problem; arachidonic acid biosynthesis was this time 2.5 times faster. From the data obtained we have found the ideal medium for production of arachidonic acid.

Bc. Iveta Mítová, rod. Pramuková (školiciteľ: doc. Ing. Daniela Šmogríčovská, PhD., konzultant: Ing. Júlia Čaplová)

SELEKCIA KVASINIEK NA PRÍPRAVU NÍZKOALKOHOLICKÝCH PÍV SELECTION OF YEAST FOR LOW-ALCOHOLIC BEER PRODUCTION

Cieľom diplomovej práce bolo otestovať produkciu etanolu 120 mutantných kmeňov obsahujúcimi deléciu v neesenciálnych génoch nachádzajúcich sa v genetickej informácii kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. Koncentrácia etanolu bola stanovená pomocou vysokoučinnnej kvapalinovej chromatografie. Kvasinky s mutáciami v niektorých génoch boli v literatúre popísané, že produkujú znížené množstvo etanolu, takže by mohli byť využité na produkciu nízkoalkoholických pív. Dôležitou úlohou bolo určenie vhodných podmienok fermentácie prebiehajúcej v malom objeme (1,5 ml) v 96-jamkových mikroplošniciach. Koncentrácie etanolu sa pohybovali v rozmedzí od 2,5 % obj. etanolu (gén *THR4*) do 3,9 % obj. etanolu (gén *DAL82*).

The aim of the diploma thesis was to determine the ethanol production of 120 mutant strains containing deletion in the non-essential genes in the genetic information of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Ethanol concentration was determined using the high-performance liquid chromatography. According to the literature, yeasts with mutations in some genes were said to have a reduced ability to produce ethanol, and could be used for low-alcoholic beer production. The essential task was identifying the appropriate conditions for fermentation in a small volume (1.5 ml) in the 96-Well-Plate-Plant. Ethanol concentration ranged from 2.5% v/v (*THR4* gene) up to 3.9% v/v (*DAL 82* gene).

Bc. Lenka Mokráňová (školiciteľ: doc. Ing. Martin Rebroš, PhD., konzultant: Ing. Vladimír Krasňan)

VYUŽITIE MINIATURIZOVANÝCH FERMENTAČNÝCH TECHNÍK PRE MIKROBIÁLNE SKRÍNINGY APPLICATION OF MINIMIZED FERMENTATION TECHNIQUES FOR MICROBIAL SCREENINGS

Počas produkcie bionafty vzniká značné množstvo vedľajšieho produktu – odpadového glycerolu. Viaceré mikroorganizmy sú schopné vytvoriť z glycerolu produkty s vyššou pridanou hodnotou. Avšak odpadový glycerol obsahuje množstvo nečistôt inhibujúcich rast a produkciu mikroorganizmov, ako je metanol, etanol, anorganické soli a metylestery mastných kyselín. V tejto práci bol skúmaný vplyv vybraných nečistôt na mikroorganizmus *Clostridium butyricum* DSM 4279 a *Escherichia coli* BL 21 (DE3). Taktiež sa stanovil inhibičný vplyv odpadových glycerolov pripravených z rozličných vstupných surovín na rast uvedených mikroorganizmov. Uvedené mera-

nia boli realizované mikroplošničkou metódou kultivácie a následne preverené na laboratórnych fermentoroch. Jednotlivé výsledky boli medzi sebou porovnávané pomocou päťdesiatpercentnej a stopercentnej inhibičnej koncentrácie.

During the production of biodiesel, crude glycerol is produced as a by-product in significant amount. Several microorganisms can convert glycerol into products with higher-added value. However, crude glycerol contains a number of impurities inhibiting the growth and production of microorganisms such as methanol, ethanol, inorganic salts and fatty acid methyl esters. In this work the influence of selected impurities on the microorganism *Clostridium butyricum* DSM 4279 and *Escherichia coli* BL 21 (DE3) was investigated. The inhibitory effect of crude glycerols prepared from various feedstocks was also determined for the growth of the microorganisms. The measurements were made by microplate cultivation method and then proved on laboratory fermenters. The individual results were compared with each other using a fifty and one hundred percent inhibitory concentrations.

Bc. Lukáš Rada (školiciteľ: doc. Ing. Vladimír Štefuca, PhD.)

VÝVOJ METÓD IZOLÁCIE AUKUBÍNU Z PLANTAGO LANCEOLATA DEVELOPMENT OF METHODS FOR AUCUBIN ISOLATION FROM PLANTAGO LANCEOLATA

Cieľom práce bolo vypracovanie metodických postupov laboratórnych analýz a návrhov metód fermentačného odbúrania sacharidov zo skorocelových extraktov pomocou vhodného mikroorganizmu v rámci projektu zameraného na izoláciu aukubínu zo skorocelu kopyjovitého. Vodný skorocelový extrakt bol analyzovaný na obsah glukózy pomocou glukózooxidázového testu a pomocou HPLC s iónmeničovou kolónou. HPLC metóda sa ukázala vhodnejšia na tento typ analýzy. Lowryho metódou bol úspešne stanovený obsah celkových bielkovín v extrakte. Koncentrácie glukózy a bielkovín varírujú v rámci rôznych šarží. So všetkých mikroorganizmov schopných fermentačne odbúrať glukózu, bol najvhodnejší mikroorganizmus *Saccharomyces cerevisiae*, ktorý odbúral glukózu na 100 % počas 24 hodinovej fermentácie. Alginátové imobilizáty s obsahom *S. cerevisiae* boli testované na operačnú stabilitu počas 4 cyklov fermentácie a boli stanovené hodnoty kinetických parametrov fermentačného odbúrania glukózy pre $K_M = 9 \cdot 10^{-9} \text{ g/l}$ a $V_{\max} = 0,353 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$.

Aim of this diploma thesis was development of laboratory analysis methods and proposition of fermentation reduction of saccharides in ribgrass extract by suitable microorganism. This thesis is part of project focused on aucubin isolation from *Plantago lanceolata*. Water extract of ribgrass was analyzed for glucose content on glucose oxidase test and on HPLC with ion exchange column. HPLC method was proven more suitable for this analysis. Lowry's method of total protein content assessment was performed successfully. Concentration of glucose and proteins varies from batch. *Saccharomyces cerevisiae* were most adequate amongst other screened microorganism, with almost 100 % reduction of glucose in 24 hours. Also, alginate particles with immobilized *S. cerevisiae* were tested for operation stability and kinetic parameters of fermentative reduction of glucose amount were assessed for $K_M = 9 \cdot 10^{-9} \text{ g/l}$ a $V_{\max} = 0.353 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$.

Bc. Miroslava Rovná (školiciteľ: doc. Ing. Katarína Dercová, PhD., konzultant: Ing. Katarína Lászlóvá)

MOŽNOSTI ZVYŠOVANIA BIODEGRADÁCIE POLYCHLÓROVANÝCH BIFENYLOV VYUŽITÍM BIOSURFAKTANTOV BIOSURFACTANT ENHANCED BIODEGRADATION OF POLYCHLORINATED BIPHENYLS

Cieľom diplomovej práce bolo štúdium bakteriálnych kmeňov, izolovaných z kontaminovaných sedimentov zo Strážskeho kanála, ich biodegradačných schopností a štúdium toxického účinku vybraných biosurfaktantov a syntetických surfaktantov na ich rast. Polychlórované bifenyly (PCB) sú antropogénne organické zlúčeniny, ktoré sa v prírode nevyskytovali do začiatku 20. storočia. Alternatívnou metódou remediácie na ošetrovanie životného prostredia znečisteného PCB je použitie biosurfaktantov. Biosurfaktanty vďaka amfifilnej štruktúre zväčšujú povrch hydrofóbnej zlúčeniny, čím sa zvyšuje biodostupnosť týchto substrátov a menia sa vlastnosti bunkového povrchu

baktérií. Výsledkom je zlepšenie bakteriálneho rastu a degradácie uhľovodíkov baktériami prítomnými v znečistenej pôde. Najvyššiu toxicitu voči rastu mal rhamnolipid, ktorého hodnota IC_{50} pre *R. ruber* bola 331,1 mg/l a pre *S. maltophilia* 831,8 mg/l. Najmenej toxický bol saponín, ktorý neovplyvňoval na rast študovaných bakteriálnych kmeňov. Najvyššie percento biodegradácie PCB (78%) bolo dosiahnuté v prítomnosti bakteriálneho kmeňa *A. xylosoxidans* prídavkom syntetického surfaktantu Tween 80, s koncentráciou rovnou 5-násobku KMK a bifenyly (1 g/l) pridaných súčasne.

The purpose of this diploma thesis was the study of the biodegradation abilities of PCB-degraders isolated from the contaminated sediments of Strážsky kanál and the study of the toxicity of selected biosurfactants and synthetic surfactants against the bacterial growth. Polychlorinated biphenyls (PCBs) are organic man-made chemicals that never existed in nature until the 1900s. An alternative method of remediation technology of the environment contaminated with PCBs is the use of biosurfactants. Due to their amphiphilic structure, biosurfactants increase the surface area of hydrophobic substances, increase the water bioavailability of such substances and change the properties of the bacterial cell surface. The result is enhanced growth and degradation of contaminants by hydrocarbon-degrading bacteria present in polluted soil. As the most toxic surfactant was observed rhamnolipid, which inhibitory concentration value IC_{50} against the bacterial growth of strains *R. ruber* was 331.1 mg/l and against *S. maltophilia* 831,8 mg/l. The lowest toxicity for the bacterial growth was observed in the case of addition of saponin. There was observed an increased biodegradation of PCBs (78%) by bacterial strain *A. xylosoxidans* in the presence of Tween 80 at a concentration of five times the critical micellar concentration and biphenyl (1 g/l) added simultaneously.

Bc. Tomáš Sahulčík (školiťel: Ing. Tatiana Klempová, PhD.; konzultant: doc. Ing. Milan Čertík, PhD.)

BIOTECHNOLOGICKÁ PRÍPRAVA C20-POLYENASÝTENÝCH MASTNÝCH KYSELÍN BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION OF C20-POLYUNSATURATED FATTY ACIDS

Táto diplomová práca sa zaoberala problematikou produkcie polyenasýtených mastných kyselín v procese polosuchých kultivácií vláknitou hubou *Mortierella alpina* s použitím pšeničných otrúb ako substrátu. Snahou bolo obohatiť tento substrát najmä o kyselinu arachidónovú a eikozapentaenóvú. Obohatený bioprodukt bude následne použitý ako prídavok do krmiva pre brojlerové kurčatá, ktorým sa do svaloviny akumulujú tieto pre človeka esenciálne mastné kyseliny a po konzumácii mäsa sa dostanú do ľudského organizmu. Tieto polyenasýtené mastné kyseliny poskytujú množstvo zdravotných benefitov. Skúmali sme viacero parametrov ovplyvňujúcich produkciu ARA a EPA. Najvyšší výtazok sme získali kultiváciou na pšeničných otrubách s prídavkom fosforečnanu draselného a šalvie na začiatku kultivácie, prídavkom submerzného mycélia s ľanovým olejom v 4. dni kultivácie a v chladovom prostredí (5 °C) od 7. dňa a to 20 mg/g bioproduktu ARA a EPA 1,9 mg/g bioproduktu.

This diploma thesis dealt with production of polyunsaturated fatty acids using fungal strain *Mortierella alpina* in process of solid-state fermentations with wheat brans as substrate. The aim of the work was to enrich the substrate with arachidonic and eicosapentaenoic acid. Fermented bioprodukt would be used as supplement into commercial feed for broiler chicken. The numerous parameters were tested and the best yield was achieved using wheat bran with addition of sage (5 % w/w), potassium phosphate and mycelium of *Mortierella alpina* obtained from four days cultivation with presence of linseed oil. The wheat brans were subsequently transferred into cold environment (5 °C) from seven days cultivation. Obtained yields were 20 mg of arachidonic acid/g bioprodukt and 1.9 mg of eicosapentaenoic acid/g bioprodukt.

Bc. Ivana Šatníková (školiťel: doc. Ing. Milan Čertík, PhD.; konzultant: Ing. Tatiana Klempová, PhD.)

UMBELOPSIS ISABELLINA AKO ZDROJ BIOAKTÍVNYCH LIPOFILNÝCH LÁTOK UMBELOPSIS ISABELLINA AS A SOURCE OF BIOACTIVE LIPOFILIC SUBSTANCES

Cieľom tejto práce bolo zistiť podmienky, ktoré zabezpečia najlepšie výtazky kyseliny gama-linolénovej a betakaroténu pri použití produkčného kmeňa *Umbelopsis isabellina* CCF 2412. Produkciu sledovaných metabolitov ovplyvňujú zdroje uhlíka, testovala sa preto laktóza, srvátka, škrob, maltóza, fruktóza, glukóza, sacharóza a glycerol. Najvyššie výtazky duálnej produkcie sa dosiahli pri použití maltózy s hodnotami pre kyselinu gama-linolénovú 234,25 mg/l a betakaroténu 106,05 mg/l. Najnevhodnejším zdrojom sa preukázala byť sacharóza, s výtazkami pre kyselinu gama-linolénovú 5,20 mg/l a betakaroténu 2,32 mg/l. Ďalším faktorom bolo použitie rôznych zdrojov dusíka. Skúmané boli kvasničný autolyzáť, *corn steep*, lyzín, sójový proteín a peptón, pričom pri posledných troch sa skúmalo aj ako sa zmení produkcia prídavkom YNB. Najlepšie výtazky dosahoval *corn steep* s hodnotami pre kyselinu gamma-linolénovú a betakarotén 297,23 mg/l a 124,96 mg/l. Najnevhodnejšie bolo použitie čistého lyzínu, pri ktorom dosahovala kyselina gamma-linolénová výtazok 56,32 mg/l a betakarotén 10,47 mg/l.

The main focus of this thesis was to determine the conditions, which secure the best production of beta carotene and gamma-linolenic acid with usage of productive base *Umbelopsis isabellina* CCF 2412. Production of these metabolites is influenced by carbon sources, therefore lactose, whey, starch, maltose, fructose, glucose, sucrose and glycerol have been tested. The highest amount of dual production was reached with usage of maltose, with values of gamma-linolenic acid 234.25 mg/l and beta carotene 106.05 mg/l. The least suitable source turned out to be sucrose, with extracts of gamma-linolenic acid 5.20 mg/l and beta carotene 2.32 mg/l. Another factor was represented by usage of different sources of nitrogen. The examination was focused on yeast extract, corn steep, lysine, soy protein and peptone. While the last three were also examined to find out how the production would change with the addition of YNB. The greatest amount of extracts was reached with usage of corn steep, with values of gamma-linolenic acid 297.23 mg/l and beta carotene 124.96 mg/l. The least suitable source to use turned out to be pure lysine. In this case the value of extract from gamma-linolenic acid was 56.32 mg/l and beta carotene reached 10.47 mg/l.

Bc. Petra Šmihulová (školiťel: Ing. Helena Hronská, PhD.)

BIOTECHNOLOGICKÁ PRÍPRAVA TRANS-KARVEOLU BIOTECHNOLOGICAL PREPARATION OF TRANS-CARVEOL

Terpény sú prchavé zlúčeniny v prírode rozšírené najmä v rôznych druhoch ovocia, zeleniny a kvetov (pomaranč, rasca, kôpor, mäta a iné), ako ich sekundárne metabolity. Karveol patrí do skupiny cyklických monoterpenoidov a vyskytuje sa v dvoch enantiomérnych formách (*cis*- a *trans*-). *Trans*-karveol môže byť syntetizovaný chemicky extrakciou priamo z rastlín, alebo biotechnologicky s využitím biokatalyzátorov. Mikrobiálne sa pripravuje konverziou D-limonénu pomocou bakteriálnych rodov *Celulosimicrobium*, *Rhodococcus* a *Pseudomonas*. Táto diplomová práca bola zameraná na biotechnologickú produkciu *trans*-karveolu pomocou vybraných kmeňov baktérií *Rhodococcus* sp. V experimentoch boli použité tieto bakteriálne kmene, kultivované v parách organických rozpúšťadiel. Boli uskutočnené experimenty s cieľom nájsť optimálne podmienky kultivácie týchto mikroorganizmov a optimálne podmienky pre biotransformáciu D-limonénu na *trans*-karveol.

Terpenes are volatile compounds that can be found in nature in different kinds of fruits, vegetables and flowers (orange, cumin, dill, mint etc.) as their secondary metabolites. Carveol belongs to the group of cyclic monoterpenoids and exists in two enantiomeric forms (*cis*- and *trans*-). *Trans*-carveol can be synthesized by chemical extraction directly from the plants or biotechnologically using biocatalysts. Microbially it is prepared by converting D-limonene using the bacteria families of *Celulosimicrobium*, *Rhodococcus* and *Pseudomonas*. This diploma thesis dealt with the biotechnological production of *trans*-carveol using selected families of bacteria *Rhodococcus* sp. The bacterial families used in the experiments were cultivated in the vapors of organic solvents. The experiments were realised with aim to find optimal conditions for cultivation of these microorganisms and to find optimal conditions for biotransformation of D-limonen to *trans*-carveol.