



MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ
ČESKÉ REPUBLIKY

Toto číslo, věnované vztahu chemie, zemědělství a potravinářství, je vydáváno za finanční podpory Ministerstva zemědělství České republiky.

Současný stav rozvoje ekologického zemědělství a produkce biopotravin ve světě a u nás

Ekologické zemědělství zaznamenává v současnosti celosvětově intenzivní rozvoj. V roce 2004 vzrostl oproti roku předchozímu objem prodeje biopotravin z 5 na 7 % z celkového množství a obrát se odhaduje na cca 25 mld Eur. Evropský trh s biopotravinami s obrátem 11 mld Eur je za USA druhým největším, z jednotlivých zemí si první příčku udržuje Německo s obrátem přes 3 mld Eur, za ním následují Velká Británie, Itálie a Francie. Konjunktura se nevyhýbá ani Dálnému Východu. V Japonsku se v roce 2003 prodalo biopotravin za 400 mil Eur, údaje novější zatím nebyly publikovány, čísla však určitě nebudou nižší. Nezaspává ani Latinská Amerika. Na počátku letošního roku se nechala slyšet Dominikánská republika, že do 10 let by se chtěla stát první „biozemí“ na světě. Znamená to, že by se tam ekologickým způsobem pěstovaly nejen jako dosud banány a kokosové ořechy, ale i všechny ostatní zemědělské produkty.

V České republice v roce 2004 činil podíl ekologicky obhospodařované půdy z celkového zemědělského půdního fondu 6,16 %. Tím jsme sice předčili evropský průměr, třeba však podotknout, že ekologické zemědělství je dosud stále u nás představováno převážně trvalými travními porosty v horských a podhorských oblastech, se zaměřením na chov dobytka a údržbu krajiny. Ke změně struktury má motivovat výše podpory, která je na hektar travních porostů 1100 Kč, na ornou půdu 3520 Kč a pokud se na ní pěstuje zelenina či speciální byliny, tak 11 050 Kč. U sadů či vinic je dotace už dokonce 12 235 Kč/ha. Zpracovatelská sféra a zásobení trhu bioprodukty nadále zaostávají. Podmínkou rozvoje ekologického zemědělství v ČR je tedy především zvýšení poptávky spotřebitelů po biopotravinách. K tomu by měla přispět intenzivnější informační a vzdělávací kampaň, vysvětlující principy a přednosti ekologického způsobu hospodaření.

Naši ekologičtí zemědělci a producenti biopotravin se při své činnosti řídí Nařízením rady EHS (EU) č. 2092 /91 a národním Zákonem č. 242/2000 Sb. Nad dodržováním právních norem bdí Kontrola ekologického zemědělství (KEZ o.p.s.), česká inspekční a certifikační organizace zřízená MZe ČR. Biopotravin a ostatní bioprodukty jsou označovány registrovanou známkou BIO.

Ekologicky hospodařící farmáři musí počítat, zejména v prvních letech, s určitými investicemi a též s nižšími hektarovými výnosy. Financování v tomto přechodném období je tedy náročnější až do chvíle, kdy dražší biopotraviny začnou samy vydělávat a přinášet zisky.

V průběhu minulého roku se uskutečnily některé významné akce, které posunuly rozvoj ekologického zemědělství a produkce biopotravin v našem státě o další krok kupředu. V rámci akreditace inspekčního a certifikačního systému u IFOAM byly vypracovány „Standards KEZ“ ve snaze podpořit postavení českých ekologických zemědělců a výrobců biopotravin na světových trzích. Jejich odborným základem jsou požadavky Basic Standards uznávané všemi členy International Federation of Organic

Agricultural Movements (IFOAM). V květnu 2004 se v Budapešti ustavil Mezinárodní svaz prodejen biopotravin ORA (Organic Retailers Association) jako střešní organizace pro národní svazy specializovaných bioprodejců na celém světě. Byla vytvořena z iniciativy IFOAM. ORA hodlá převzít odpovědnost za zachování integrity a kvality certifikovaných bioproduktů pod heslem „Od farmáře až po spotřebitele“ zavedením směrnic pro specializovaný prodej biopotravin.

V Lednici se konal již IV. ročník Evropské letní akademie ekologického zemědělství – „Bioakademie“ opět s bohatým odborným i společenským programem, která už se stala pojmem a tradiční akcí pro EU, zejména pro její východní část.

V listopadu 2004 byl na Palackého univerzitě v Olomouci slavnostně založen Bioinstitut, o.p.s., ústav pro ekologické zemědělství a udržitelný rozvoj krajiny jako společné pracoviště Palackého univerzity, Svazu PRO-BIO a FiBL, renomovaného švýcarského výzkumného ústavu ekologického zemědělství, který má své pobočky např. již v Německu a Rakousku a různé projekty na mezinárodní úrovni řeší v celé Evropě. Prioritními aktivitami Bioinstitutu je společná příprava projektů 6. rámcového programu EU.

Z počátku roku letošního je třeba připomenout naši účast na XVI. mezinárodním veletrhu Bio Fach 2005 v Norimberku. Letos poprvé mohli čeští zemědělci a zpracovatelé využít možnosti „ukázat se“ výrazně rozsáhlejší (80 m²) výstavní expozicí s cílem podpořit odbyt produktů českého ekologického zemědělství v zahraničí a navázat mezinárodní kontakty.

V České republice fungují tři formy obchodu s biopotravinami: prodejny „zdravé výživy“ a specializované bioprodejny, řetězce supermarketů a hypermarketů a prodej „ze dvora“. V provozu je kolem 200 specializovaných prodejen zdravé výživy a celkově ve 400 prodejnách jsou biopotraviny zařazeny do sortimentu. Jen několik moderních specializovaných prodejen se širokou nabídkovou paletou již působí v Praze, stejně jako několik bister a restaurací. To však jsou zatím jen výjimky.

Experti očekávají, že se vstupem ČR a ostatních devíti nových členských států do Evropské Unie (samozřejmě s ohledem na rozdíly jednotlivých zemí), nastanou příznivější podmínky a příležitosti pro rozvoj ekologického hospodaření. Zejména Českou republiku, Maďarsko, Polsko a Slovensko vidí jako dobrou půdu pro hlubší zakotvení ekologického sektoru. Zatímco dříve vysoká cla a poplatky za importované zboží výrazně ztěžovaly doplňování dosud úzkého místního sortimentu ekologických produktů, dnes takové bariéry nejsou. Spotřebitelé si mohou vybírat ze stále se rozšiřujícího sortimentu bioproduktů na pultech obchodů. V zemích střední a východní Evropy zůstávají ovšem ceny určujícím faktorem.

Chápání pojmu kvality v ekologickém zemědělství je poněkud odlišné od konvenčního a její definice v „celostním“ smyslu má obsah širší o nové etické a sociopsychologické aspekty. Di-

menze jakosti zahrnuje v tomto případě v sobě i hodnotu celého produkčního procesu a systému, v němž se odehrává, a jímž zpětně působí na životní prostředí. Zvýšená pozornost je věnována souvislostem výživy se zdravím, životní aktivitou, odolností organismu, atd., za méně významné se naopak považují čistě technologické vlastnosti požadované zpracovatelem a často přímo diktované potřebami rychle se rozvíjející automatizace potravinářského průmyslu.

Biopotraviny jsou označeny známkou (pruhovaná luneta s nápisem BIO) umístěnou na obalu a mají příslušný certifikát. Musí ovšem současně splňovat veškeré hygienické předpisy platící pro potraviny konvenční.

Souhrnně lze říci, že od ekologicky vypěstovaných produktů

a z nich připravených biopotravin možno s vysokou pravděpodobností očekávat vyšší hygienickou (nízké hodnoty obsahu kontaminujících látek, např. reziduí pesticidů, toxických kovů, dusičnanů, aj.) a často i nutriční hodnotu, lepší skladovatelnost a mnohdy i senzoričnou kvalitu, než u srovnatelných produktů konvenčních. Nemusi to ovšem platit vždy a za všech okolností. V nařízení příslušné komise EU „O ekologickém zemědělství a označování biopotravin“ se výslovně uvádí, že etiketa potvrzuje původ a účast kontrolního systému, nemá však u spotřebitele vzbuzovat dojem, že současně je garantována i vyšší zdravotní hodnota.

Jaroslav Prugar,
předseda Komise pro jakost rostlinných produktů ČAZV

Antioxidanty ve výživě moderního člověka

Od pravěku až do počátku minulého století se člověk živil hlavně tuky s nízkým obsahem polyenových mastných kyselin, tj. mastných kyselin se dvěma a více dvojnými vazbami v molekule (máslo, olivový olej, kokosový tuk). Vzhledem ke krátké době života většiny tehdejší populace se negativní vliv přítomných nenasycených kyselin neprojevil a lidé byli s touto stravou spokojeni. Během 20. století se střední doba života prodlužovala a vliv nenasycených kyselin se prokázal u starších osob jako nepříznivý. V padesátých letech dospěli odborníci k názoru, že nenasycené kyseliny způsobují problémy u osob trpících chorobami krevního oběhu a že je důležité, aby nenasycenost mastných kyselin ve stravě vzrostla. Odborníci ve výživě proto propagovali konzum rostlinných olejů, které se do té doby ve střední Evropě požívaly jen v postní době. Rostlinné oleje jsou bohaté na polyenové mastné kyseliny a tím podstatně vzrostl příjem kyseliny linolové se 2 dvojnými vazbami v molekule.

Výše nenasycené mastné kyseliny se sice lépe udržely v lipoproteínech krevního séra rozpuštěné, ale na druhé straně se snadno oxidovaly přítomným kyslíkem za vzniku volných radikálů. Radikály se v krvi vyskytovaly ovšem od pradávna, ale jen v takovém množství, že je přirozené regulační mechanismy dokázaly neutralizovat. Jakmile se však volných radikálů začalo tvořit příliš mnoho, nestačila se přirozenými mechanismy regulovat jejich hladina. Volné radikály reagovaly s lipoproteiny a s proteiny cévních stěn a tvořily se usazeniny, typické pro aterosklerosu. Proto se dnes doporučuje, aby většinu nenasycených mastných kyselin tvořily kyseliny s jednou dvojnou vazbou, které jsou stabilnější proti oxidaci, kdežto obsah polyenových mastných kyselin by se měl snížit.

Snížení rozsahu oxidačních procesů v krevní plasmě je také možno dosáhnout jiným přístupem, a to využitím ochranného působení antioxidantů. Také antioxidanty byly u člověka přítomny vždy, ale stačilo jich k inaktivaci volných radikálů jen malé množství. Při zvýšeném obsahu volných radikálů bylo potřeba také obsah antioxidantů zvýšit. K dispozici byly samozřejmě syntetické antioxidanty, jejichž neškodnost pro člověka byla prokázána a použití do potravin schváleno, ale naneštěstí má většina spotřebitelů i lékařů k chemii nedůvěru, která vznikla již ve školních lavicích. S větším pochopením se tedy setkalo doporučení aplikace přírodních antioxidantů, protože většina obyvatelstva považuje

přírodu za lidstvu příznivou, i když pro toto přesvědčení nemá žádné důkazy.

Z přírodních antioxidantů přicházejí v úvahu jako přísada do potravin hlavně tokoferoly, protože jsou přirozenou složkou rostlinných olejů. Tokoferoly se v olejích vyskytují většinou v množství optimálním pro inhibici oxidace přítomných mastných kyselin. V některých rostlinných olejích se vyskytují kromě tokoferolů ještě další v tuku rozpustné antioxidanty, např. deriváty lignanů a některé terpeny. V běžné stravě člověka se vyskytují ještě další, polární antioxidanty, a to hlavně v zelenině a v některém ovoci. K těmto antioxidantům např. patří deriváty kyseliny benzoové nebo skořicové, substituované hydroxylovými nebo methoxylovými skupinami, jako je kyselina kávová nebo ferulová. Významnou skupinou jsou flavonoidy, katechiny a anthokyaniny. Vysoký obsah antioxidantů je jedním z důvodů, proč se doporučuje zvýšený konzum zeleniny a ovoce. Některým osvětleným spotřebitelům ani přirozené antioxidanty ve stravě nestačí, protože chtějí být ještě zdravější. Průmysl takovým zákazníkům pochopitelně vychází vstříc a na trhu se proto objevilo mnoho přípravků s vysokým obsahem antioxidantů. Protože lidé zpravidla věří spíše něčemu vzdálenému, čemu nerozumějí, jsou v těchto preparátech často extrakty z rostlin Dálného Východu nebo tropické Ameriky. Jejich nezávadnost je často pochybná, protože byly používány v zemích původu jen k léčebným účelům. Účinnosti se obvykle tyto výrobky vyrovnají účinnosti antioxidantů z domácích zdrojů.

Je známo, že účinnost antioxidantů s rostoucí koncentrací klesá, a při nadměrném přídávku mohou být zcela neúčinné nebo dokonce prooxidační. Vyskytuje se obava, že lidský metabolismus není připraven ke zpracování tak vysoké hladiny antioxidantů, takže je otázkou, zda by nemohly škodit. Neškodnost přírodních antioxidantů totiž nebyla zkoumána zdaleka tak podrobně, jako tomu je u syntetických antioxidantů. Není tedy jisto, zda není překročena bezpečná hranice denního příjmu. Ještě méně je známo o fyziologických účincích reakčních produktů antioxidantů s volnými radikály. Mělo by se proto i při aplikaci antioxidantů do stravy postupovat s rozumem a jejich příjem nepřehánět.

Jan Pokorný, VŠCHT Praha

OXIDATIVNÍ STRES: LOKALIZACE TVORBY AKTIVNÍCH FOREM KYSLÍKU A JEJICH DEGRADACE V ROSTLINNÉM ORGANISMU

JANA PITERKOVÁ^a, KATEŘINA TOMÁNKOVÁ^{a,b},
LENKA LUHOVÁ^a, MAREK PETŘIVALSKÝ^a
a PAVEL PEČ^a

^aKatedra biochemie a ^bKatedra botaniky, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc, Česká republika
luhova@prfholnt.upol.cz

Došlo 14.1.05, přijato 2.4.05.

Klíčová slova: aktivní formy kyslíku, oxidativní stres, antioxidanty, β -karoten, α -tokoferol, askorbát, askorbát-glutathionový cyklus, glutathionperoxidasa, katalasa, askorbátperoxidasa, superoxididmutasa, peroxidasa, NADPH-oxidasa, aminoxidasa, cytochrom P450

Obsah

1. Úvod
2. Stresové faktory a mechanismy odolnosti rostlin
3. Aktivní formy kyslíku
4. Neenzymová produkce aktivních forem kyslíku
5. Enzymová produkce aktivních forem kyslíku
6. Lokalizace produkce aktivních forem kyslíku v rostlinném organismu
 - 6.1. Chloroplasty
 - 6.2. Mitochondrie
 - 6.3. Peroxisomy
 - 6.4. Endoplazmatické retikulum
 - 6.5. Plazmatická membrána
 - 6.6. Buněčná stěna
 - 6.7. Apoplast
7. Katabolismus aktivních forem kyslíku
 - 7.1. Antioxidanty
 - 7.1.1. L-askorbát
 - 7.1.2. Karotenoidy
 - 7.1.3. Redukovaný glutathion
 - 7.1.4. α -Tokoferol
 - 7.2. Antioxidační enzymy
 - 7.2.1. Superoxididmutasa
 - 7.2.2. Katalasa
 - 7.2.3. Enzymy askorbát-glutathionového cyklu
 - 7.2.4. Glutathionperoxidasy
8. Závěr

1. Úvod

Rostliny jsou v průběhu svého života vystavovány působení řady stresových faktorů, které mohou nejen zpomalovat jejich životní funkce, ale také poškozovat jednotlivé orgány a v krajním případě vést až k uhynutí rostliny. Stresové faktory mohou být biotické (útok patogena, negativní působení okolních organismů, stárnutí) nebo abiotické povahy (herbicidy, intenzivní světlo, teplo, chlad, mraz, těžké kovy, sucho, ozón).

Působení stresových faktorů může vyvolat u rostlin oxidativní stres, charakteristický prudkou přechodnou tvorbou velkého množství aktivních forem kyslíku (AFK)^{1,2}. Dochází k porušení rovnováhy mezi produkcí a odbouráváním AFK (cit.³). Zdrojem AFK je řada redoxních reakcí jako např. redukce kyslíku v průběhu elektronového transportu v mitochondriích nebo fotolýza vody chloroplastovým elektronovým transportním řetězcem. Produkce singletového kyslíku následně stimuluje vznik dalších aktivních forem kyslíku, tj. peroxidu vodíku, superoxidového nebo hydroxylového radikálu⁴. Tyto reaktivní molekuly, zejména hydroxylový radikál, působí destruktivně na lipidy, nukleové kyseliny a proteiny. AFK nejsou jen toxickými vedlejšími produkty metabolismu, ale fungují také jako signální molekuly kontrolující obranné procesy rostlinného organismu a hrají významnou roli v procesu programované buněčné smrti⁵⁻⁷. AFK mají přímý toxický účinek na patogení organismus^{8,9} a podílejí se aktivně na strukturálním zesílení rostlinné buněčné stěny^{10,11}.

Ochranu před oxidačním poškozením organismu aktivními formami kyslíku zajišťuje řada antioxidačních obranných systémů lokalizovaných v různých buněčných strukturách. Antioxidační obranné mechanismy zahrnují neenzymové a enzymové systémy. Mezi velmi účinné antioxidanty řadíme askorbát, β -karoten, redukovaný glutathion a α -tokoferol^{12,13}. Specializované enzymy jako superoxididmutasa (EC 1.15.1.1), peroxidasa (EC 1.11.1.7), katalasa (EC 1.11.1.6) a enzymy askorbát-glutathionového cyklu zabezpečují univerzální obranu rostlin^{14,15}.

2. Stresové faktory a mechanismy odolnosti rostlin

Proměnlivé podmínky vnějšího prostředí často negativně působí na rostliny, které se pod tlakem nejrůznějších nepříznivých vlivů (stresorů) ocitají ve stresu. Stres je dynamický komplex mnoha reakcí.

Výzkum vztahů mezi vnějším prostředím a stresovými reakcemi rostlin obvykle začíná studiem přenosu podnětů vyvolávajících stres na rozhraní orgánů rostliny s vnějším prostředím a dále pak přenosem signálů uvnitř rostliny. Mechanismy odolnosti proti stresu lze obecně

rozdělit do dvou kategorií¹⁶. Prvními jsou mechanismy zabraňující tomu, aby byla hostitelská rostlina vystavena stresu („avoidance mechanisms“). Tento způsob obrany zahrnuje mechanickou bariéru rostlin, která má převážně pasivní a dlouhodobý charakter (např. silná kutikula na listech, výrazná impregnace buněčných stěn, rezervoáry vody a řada organických látek).

Druhou skupinu obranných mechanismů tvoří tzv. aktivní obrana rostlin („tolerance mechanisms“), která omezuje negativní dopad stresorů až po jejich proniknutí k plazmatické membráně buněk a do symplastu. V takovém případě dochází ke spuštění řetězce změn, označovaného jako stresová reakce. Průběh a výsledek stresové reakce závisí jednak na intenzitě a délce působení stresového faktoru, jednak na rostlině samotné (stadium vývoje, vitalita, genotyp, adaptační schopnosti). Studium vlivu stresu na rostliny v přírodních podmínkách je komplikováno tím, že často působí současně více stresových faktorů. Působení stresorů bývá také obvykle omezeno pouze na část rostliny, ve které dochází k lokální stresové reakci, ale ta může druhotně způsobovat stres i v ostatních orgánech.

3. Aktivní formy kyslíku

Přehled aktivních forem kyslíku je uveden v tabulce I. Za normálních růstových podmínek je produkce aktivních forem kyslíku v buňce nízká (např. v chloroplastu $240 \mu\text{mol s}^{-1} \text{O}_2^{\cdot-}$). Působí-li na rostlinu stresové faktory, které naruší její buněčnou homeostázu, dochází k výraznému zvýšení koncentrace AFK v buňce (např. v chloroplastu až $720 \mu\text{mol s}^{-1} \text{O}_2^{\cdot-}$) (cit.²).

Aktivní formy kyslíku hrají v biologických systémech dvojí roli: *i*) slouží jako signální molekuly pro expresi

Tabulka I
Značení a molekulární struktury aktivních forem kyslíku v rostlinách

Sloučenina	Zkrácené značení	Struktura
Singletový kyslík	$^1\text{O}_2$	O-O:
Superoxidový anion-radikál	$\text{O}_2^{\cdot-}$	$[\ddot{\text{O}}=\ddot{\text{O}}]^-$
Hydroxylový radikál	OH^\cdot	$\ddot{\text{O}}-\text{H}$
Hydroxylový ion	OH^-	$\ddot{\text{O}}-\text{H}$
Perhydroxylový radikál	O_2H^\cdot	$\ddot{\text{O}}=\ddot{\text{O}}-\text{H}$
Peroxid vodíku	H_2O_2	$\text{H}-\ddot{\text{O}}-\ddot{\text{O}}-\text{H}$

genů, *ii*) jako toxické meziprodukty aerobního metabolismu způsobují poškození či zánik buňky¹⁷. Reakci s nenasycenými mastnými kyselinami dochází k peroxidaci esenciálních membránových lipidů v plazmalemě nebo v intracelulárních organelách¹⁸. Peroxidační poškození plazmalemy vede k úniku buněčného obsahu a k buněčné smrti. Intracelulární poškození membrány ovlivňuje respirační aktivitu mitochondrie a způsobuje také ztrátu schopnosti chloroplastu fixovat CO_2 (cit.¹). Aktivní formy kyslíku mohou inaktivovat enzymy, oxidovat proteiny a poškozovat DNA a RNA. V důsledku uvedených reakcí nastává buněčná smrt. Zvýšená koncentrace AFK je důležitým jevem pro vznik hypersensitivní reakce rostlin a následnou programovanou buněčnou smrt¹⁹.

Přehled zdrojů a biologických účinků AFK je shrnut v tab. II (cit.¹). V biologických systémech jsou AFK produkovány cestou enzymových a neenzymových reakcí.

4. Neenzymová produkce aktivních forem kyslíku

Přítomnost molekulárního kyslíku, nezbytného pro existenci aerobních organismů byla ze všech planet Sluneční soustavy prokázána pouze na Zemi. Kyslík v atmosféře Země (21 % O_2) je tvořen v průběhu fotosyntézy kyanobakteriemi a rostlinami¹.

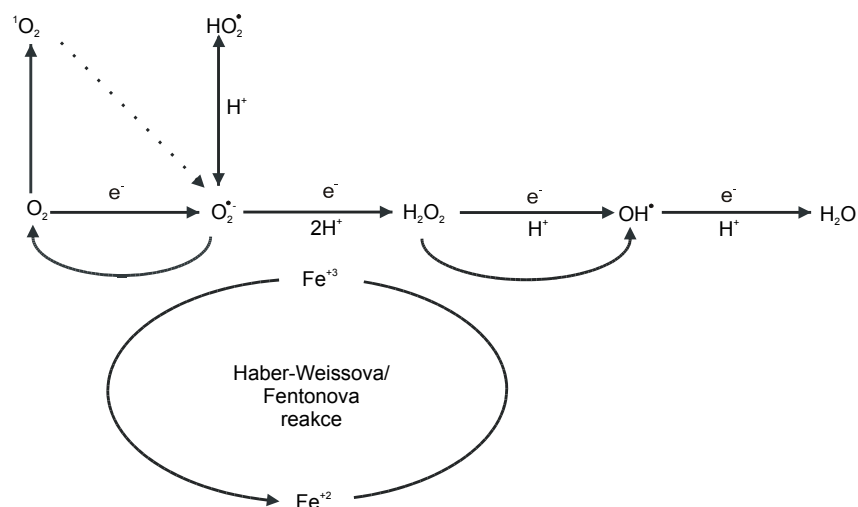
Atmosférický kyslík v základním stavu se od ostatních plynných prvků liší tím, že je biradikál, jinými slovy obsahuje dva nepárové elektrony. Tato vlastnost způsobuje jeho paramagnetismus. Požadavek aktivace hraje významnou roli, neboť nepárové elektrony molekuly kyslíku mají paralelní spin, což podle Pauliho principu zabraňuje reakcím s bivalentním reduktantem. Reakce by mohla probíhat pouze za předpokladu, že tento reduktant má také dva nepárové elektrony s paralelním spinem, ale opačné orientace k tomu, který má molekulární kyslík. Tato pravděpodobnost je však velmi malá.

Molekulární kyslík je tedy poměrně málo reaktivní²⁰. Jeho aktivace probíhá různými mechanismy (obr. 1). Prvním z nich je absorpce dostatečné energie potřebné k obrácení spinu jednoho z nepárových elektronů. Hodnota této energie je 22 kJ mol^{-1} a je získána přenosem excitační energie světelných kvant pigmenty fotosyntetického reakčního centra¹. Vzniklý singletový kyslík ($^1\text{O}_2$) je ve srovnání s molekulárním kyslíkem velmi reaktivní. Doba jeho života je $4 \mu\text{s}$ ve vodě a $100 \mu\text{s}$ v nepolárním prostředí. Singletový kyslík může svou excitační energii přenést buď na jiné biologické molekuly, nebo s nimi může reagovat za vzniku hydroperoxidů⁴. Druhým mechanismem je aktivace kyslíku jednoelektronovou redukcí, kdy dochází ke tvorbě superoxidu ($\text{O}_2^{\cdot-}$), peroxidu vodíku (H_2O_2), hydroxylového radikálu (OH^\cdot) a vody podle schématu na obr. 1.

Celková redukce molekulárního kyslíku na vodu vyžaduje čtyři elektrony a je vždy doprovázená postupnou jedno až tří elektronovou redukcí, kdy dochází ke tvorbě superoxidového radikálu, peroxidu vodíku a hydroxylové-

Tabulka II
Přehled zdrojů a biologických účinků aktivních forem kyslíku^{1,30,31,50, 51,52}

Forma kyslíku	Zdroj	Biologický efekt
O ₂	atmosferický kyslík, PSII, různé enzymy (superoxiddismutasa, katalasa)	inhibice fotosyntézy (preference oxygenasové reakce ribulosa-1,5-bisfosfátcarboxylasy/oxygenasy), náhodná produkce volných radikálů
O ₂ ^{•-}	osvětlené chloroplasty, PSII a PSI, mitochondrie v přítomnosti NADH, Fe-S proteiny, cytochrom P450, elektronový transportní řetězec v endoplasmatickém retikulu, herbicidy (paraquat a nitrofen), enzymové reakce: xanthinoxidasa, NAD(P)H oxidasa, aldehydoxidasa, urikáza (EC 1.7.3.3).	peroxidace lipidů, inaktivace enzymů, depolymerizace polysacharidů, reakce s H ₂ O ₂ za tvorby OH [•] , schopnost oxidovat síru, askorbát a NADPH, redukovat cytochrom c a ionty kovů
H ₂ O ₂	glykolátoxidasa v glyoxysomech, osvětlené chloroplasty - PSII, mitochondrie v přítomnosti NADH, β-oxidace mastných kyselin, Fe-S proteiny a enzymové reakce (SOD, glykolátoxidasa, aminoxidasa, oxalátoxidasa (EC 1.2.3.4), peroxidasy...)	inhibice fixace CO ₂ , inaktivace enzymů Calvinova cyklu, oxidace sulphydrylů a flavonolů, substrát oxidační reakce
OH [•]	Haberova-Weissova reakce, Fentonova reakce	velmi silné oxidační činidlo, poškození DNA, peroxidace lipidů, degradace proteinů, produkce C ₂ H ₄
¹ O ₂	excitované chlorofylové molekuly v tripletovém stavu, znečištění vzduchu (NO ₂ , O ₃ , atd.)	mutageneze, peroxidace lipidů, fotooxidace aminokyselin



Obr. 1. Celková redukce molekulárního kyslíku na vodu vyžaduje čtyři elektrony a je vždy doprovázená postupnou jedno až tři elektronovou redukcí, kdy dochází ke tvorbě superoxidového radikálu, peroxidu vodíku a hydroxylového radikálu⁴

ho radikálu⁴. Reakční řetězec vyžaduje iniciaci v prvním kroku, zatímco následné kroky jsou exotermní a mohou tedy probíhat samovolně²¹.

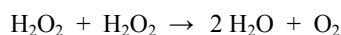
První reakce představuje univalentní redukcí molekulárního kyslíku vedoucí ke tvorbě superoxidového anionradikálu (O₂^{•-})²². Superoxid je mírně reaktivní, krátce žijící forma kyslíku s poločasem života přibližně 2–4 μs. Neprochází přes biologické membrány⁴ a funguje jako oxidační i redukční činidlo. Oxiduje např. síru, askorbát, NADPH,

některé aminokyseliny (histidin, methionin, tryptofan)²¹, redukováný cytochrom c, chinony a komplexy přechodných kovů, čímž ovlivňuje aktivitu metaloenzymů⁴. V živých buňkách existuje superoxidový radikál v rovnováze se svou protonovanou formou, perhydroxylovým radikálem (O₂H[•]). Ten je více hydrofobní než superoxid a může tedy jednodušeji proniknout lipidovou dvojrůstvou membrán, kde odebrá protony z polynenasycených mastných kyselin a lipidových hydroperoxidů,

čímž zahajuje oxidaci lipidů⁴. Ve vodném rozpouštědle, v neutrálním nebo mírně kyselém pH tento radikál v obou formách dismutuje na peroxid vodíku a kyslík²³. Reakce probíhá samovolně nebo za katalýzy enzymem superoxid-dismutasou.

Druhá redukce kyslíku produkuje peroxid vodíku, což je poměrně stabilní molekula s poločasem života 1 ms (cit.⁴). Peroxid vodíku je schopen procházet přes buněčnou membránu. Nově vzniklý H₂O₂ v rostlinné buňce může být:

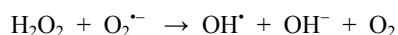
- a) disproportionován na vodu a kyslík v reakci katalyzované katalasou,



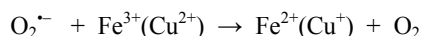
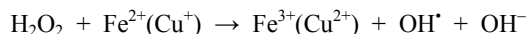
- b) použit jako substrát různých peroxidas,

- c) detoxifikován askorbátperoxidasou (EC 1.11.1.11), která působí spolu s dehydroaskorbátreduktasou (EC 1.8.5.1) a glutathionreduktasou (EC 1.8.1.7) v Halliwellově-Asadově dráze²³.

Třetí reakce je velmi důležitá z hlediska oxidativního stresu. Jde o tříelektronovou redukci molekulárního kyslíku, kdy je produkována nejreaktivnější forma kyslíku – hydroxylový radikál²², který se může tvořit přímou reakcí v tzv. Haberově-Weissově reakci peroxidu vodíku a superoxidu²⁴:



Za normálních podmínek se jedná o pomalou reakci, která není účinná v tvorbě značného množství hydroxylového radikálu. Dostatečné množství se však může tvořit cyklem Fentonovy reakce zahrnující oxidaci přechodných kovů, jako jsou železnaté nebo měďné ionty^{25,26}:



Následná regenerace oxidovaných iontů na jejich redukováný stav probíhá cestou reakce se superoxidovým radikálem. Lokalizace a dostupnost přechodných kovů s katalytickým účinkem ve Fentonově reakci jsou pravděpodobně hlavními faktory určujícími místo tvorby hydroxylového radikálu²³. Hydroxylový radikál je velmi silný

oxidant, který může iniciovat radikálové řetězové reakce s řadou organických molekul, vedoucích k peroxidaci lipidů, inaktivaci enzymů a poškození nukleových kyselin²⁷. Poločas jeho života je menší než 1 μs (cit.²³).

5. Enzymová produkce aktivních forem kyslíku

Aktivní formy kyslíku v živém organismu vznikají rovněž cestou enzymových reakcí. Značné množství superoxidového radikálu jako meziprojektu se tvoří reakcemi katalyzovanými enzymy jako je dihydroorotátdehydrogenasa (EC 1.3.3.1), xanthinoxidasa (EC 1.17.3.2) nebo tryptofandioxygenasa (EC 1.13.11.11)²². Nejznámějším z těchto enzymů je xanthinoxidasa, která používá jako donory elektronů xanthin, hypoxanthin či acetaldehyd²⁰. Při katalytické oxidaci xanthinu na kyselinu močovou se uvolňuje superoxidový radikál, který podléhá redukci za tvorby peroxidu vodíku (H₂O₂) a hydroxylového radikálu (OH[•]) cestou Haberovy-Weissovy a Fentonovy reakce⁴. Xanthinoxidasová reakce se obecně používá jako zdroj kyslíkových radikálů pro studie *in vitro*²².

Aldehydoxidasa (EC 1.2.3.1) podobně jako xanthinoxidasa obsahuje molybden a katalyzuje oxidaci aldehydu za tvorby superoxidového radikálu²².

Dalším možným zdrojem aktivních forem kyslíku je reakce katalyzovaná lipoxygenasou (EC 1.13.11.12), při které dochází k peroxidaci polynenasycených mastných kyselin. Vzniklé peroxidderiváty podléhají autokatalytické degradaci, při které dochází ke tvorbě radikálů iniciujících řetězové reakce peroxidace lipidů²⁰.

Do skupiny enzymů redukcující molekulární kyslík přímo bez tvorby superoxidu jako meziprojektu patří prostaglandinsynthasa (EC 1.14.99.1), guanylatcyklasa (EC 4.6.1.2), glukosaoxidasa (EC 1.1.3.4) a D- a L-aminokyselinoxidasa (EC 1.4.3.2-3)²².

Oxalát oxidasa (EC 1.2.3.4) katalyzuje produkci peroxidu vodíku a oxidu uhličitého z oxalátu za přítomnosti kyslíku²⁸. Aminoxidasa (EC 1.4.3.6) katalyzuje oxidaci biogenních aminů na příslušný aldehyd za uvolnění amoniaku a peroxidu vodíku²⁹.

Tabulka III

Zdroje aktivních forem kyslíku²

Mechanismus	Lokalizace	AFK
Fotosyntetický elektronový transportní řetězec	chloroplast	O ₂ ^{•-}
Respirační elektronový transportní řetězec	mitochondrie	O ₂ ^{•-}
Glykolát oxidasa	peroxisomy	H ₂ O ₂
Excitovaný chlorofyl	chloroplast	¹ O ₂
NADPH-oxidasa	plazmatická membrána	O ₂ ^{•-}
β-Oxidace mastných kyselin	peroxisomy	H ₂ O ₂
Oxalát oxidasa	apoplast	H ₂ O ₂
Xanthinoxidasa	peroxisomy	O ₂ ^{•-}
Peroxidasy (Mn, NADH)	buněčná stěna	H ₂ O ₂ , O ₂ ^{•-}
Aminoxidasa	apoplast	H ₂ O ₂

6. Lokalizace produkce aktivních forem kyslíku v rostlinném organismu

V rostlinách existuje řada známých zdrojů aktivních forem kyslíku (tab. III), které jsou produkovány i v rámci normálního metabolismu, např. v průběhu fotosyntézy a respirace². Na zvýšené tvorbě AFK se podílí zejména NADPH-oxidasa (EC 1.6.3.1), aminoxidasa a peroxidasa vázaná na buněčnou stěnu²¹.

6.1. Chloroplasty

Chloroplasty, fotosyntetické orgány, jsou považovány za nejvýznamnější zdroje aktivních forem kyslíku v rostlinách^{21,30}. Při absorpci záření asimilačními pigmenty se v nich soustřeďuje velké množství energie a současně se (za světla) zvyšuje koncentrace kyslíku, který vzniká při fotolýze vody ve fotosystému II.

Ve fotosystému I, jehož redukční místo obsahuje Fe-S centra, redukovaný thioredoxin a ferredoxin, může docházet k redukci kyslíku Mehlerovou reakcí. Primárním produktem této reakce je superoxidový radikál, z něhož se mohou dále tvořit reaktivnější hydroxylové radikály a peroxid vodíku. Mehlerova reakce probíhá při nízké koncentraci NADP⁺, např. při nedostatečně rychlé zpětné oxidaci NADPH v Calvinově cyklu.

Fotoredukce kyslíku spojená s tvorbou superoxidu je možná i ve fotosystému II (PS II). Zde dochází k přenosu čtyř elektronů z molekuly vody na reakční centrum PS II a k uvolnění tripletového kyslíku nebo kyslíku v základním stavu. Únik elektronů z tohoto místa na molekulu kyslíku nebo uvolnění částečně redukovaného kyslíku přispívá k produkci aktivovaného kyslíku. Uvažuje se také o možné pozitivní funkci tohoto procesu jako o jedné z cest disipace excitační energie chránící fotosystém II před fotoinhibičním poškozením.

Fotoaktivovaný chlorofyl převádí excitační energii na

reakční centra fotosystémů. Za jistých podmínek může být tato excitační energie chlorofylu přenesena na kyslík v základním stavu za vzniku singletového kyslíku. K tomuto jevu dochází např. při zavřených průduších v době sucha, při narušení membránového transportu, při nedostatku živin nebo v přítomnosti xenobiotik.

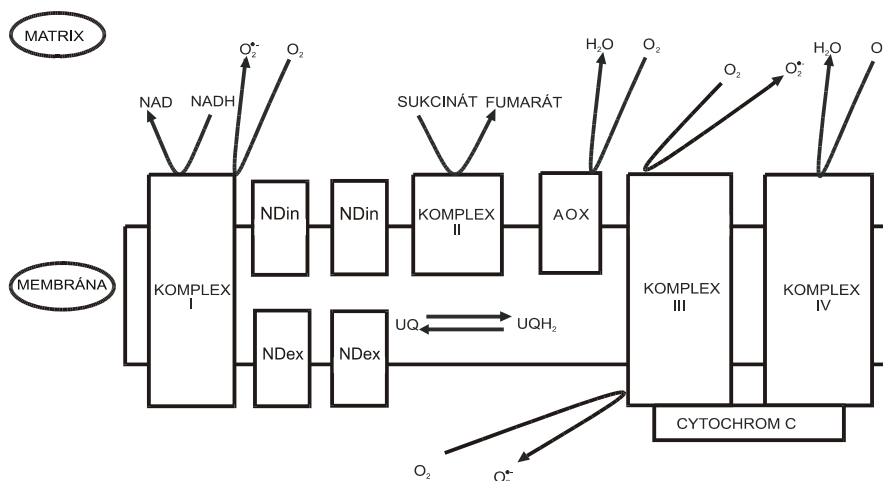
Fotorespirace je oxygenační pochod, odehrávající se v chloroplastech, při kterém enzym ribulosa-1,5-bisfosfát-karboxylasa/oxygenasa (rubisco) (EC 4.1.1.39) katalyzuje adici kyslíku k ribulosa-1,5-bisfosfátu za vzniku fosfoglykolátu a fosfoglycerátu. Ačkoli tato reakce netvoří AFK přímo v chloroplastech, následujícím odbouráním glykolátu v peroxisomech vzniká peroxid vodíku.

6.2. Mitochondrie

Produkce superoxidového radikálu v mitochondriálním elektronovém transportním řetězci je zjevně zvýšená v přítomnosti antimycinu A, který blokuje tok elektronů přes ubichinon. To vede k hromadění redukovaného ubichinonu, jenž pak podléhá autooxidaci za tvorby superoxidu²².

Mitochondriální elektronový transportní řetězec je tedy hlavním místem produkce aktivních forem kyslíku v mitochondriích (obr. 2). Kromě komplexů I až IV obsahuje mitochondrie alternativní oxidasu (AOX) a na každé straně vnitřní membrány dvě NAD(P)H dehydrogenasy (EC 1.6.99.1)³¹. Různé Fe-S proteiny a NADH dehydrogenasa (EC 1.6.99.3) jsou předpokládaným místem produkce superoxidu a peroxidu vodíku³². Izolované mitochondrie produkují H₂O₂ a O₂⁻ v přítomnosti NADH^{33,34}.

Komplex I je hlavním enzymem oxidujícím NADH za normálních podmínek a spolu s komplexem III místem produkce aktivních forem kyslíku. Vyšší rychlosti produkce AFK dosáhneme inhibicí obou terminálních oxidas, komplexu IV a AOX (cit.²¹).



Obr. 2. Schématické zobrazení elektronového transportního systému ve vnitřní mitochondriální membráně naznačující možné místo produkce superoxidu redukovaným ubichinonem^{2,31}. AFK mohou vznikat na obou stranách membrány. Zkratky: Ndin, Ndex, vnitřní a vnější NAD(P)H dehydrogenasy; UQ, ubichinon; AOX, alternativní oxidasa

6.3. Peroxisomy

Peroxisomy jsou buněčné orgány o průměru 0,1–1,7 μm, obsahující granulární nebo fibrilární matrix a ohraničené jednoduchou membránou. V tabulce IV jsou uvedeny metabolické děje doposud popsané pro peroxisomy rostlin a hub³⁵. V rostlinách bylo nalezeno několik typů peroxisomů. Glyoxisomy jsou specializované peroxisomy v zásobních pletivech olejnatých semen, které obsahují enzymy β-oxidace mastných kyselin a glyoxylátového cyklu. Tyto enzymy slouží k přeměně rezervních lipidů semene na cukry potřebné pro klíčení a růst rostlin.

Dalším typem specializovaných peroxisomů jsou peroxisomy hlízek kořenů tropických luštěnin, ve kterých probíhá syntéza alantoinu, hlavního transportního metabolitu dusíku.

Hlavní metabolické procesy odpovědné za tvorbu peroxidu vodíku v různých typech peroxisomů jsou fotorepirační glykolátoxidase reakce, β-oxidace mastných kyselin, enzymové reakce flavinoxidase a dismutace superoxidového radikálu³⁵. V průběhu fotorespirace glykolátoxidasa (EC 1.1.3.15) katalyzuje oxidaci glykolátu za tvorby peroxidu vodíku²¹. Enzymy fotorepirační dráhy jsou uspořádány v matrix peroxisomu ve formě multienzymového komplexu, který umožňuje přenos metabolitů přes membránu peroxisomu pomocí prolinových kanálků³⁵.

V peroxisomech existují dvě místa produkce superoxidového radikálu. Prvním místem je matrix peroxisomu,

Tabulka IV

Metabolické procesy odehrávající se v peroxisomech hub a vyšších rostlin³⁵

Organismus	Metabolický děj
Rostliny	fotorespirace β-oxidace mastných kyselin glyoxylátový cyklus metabolismus ureidů metabolismus aktivních forem kyslíku
Houby	metabolismus methanolu syntéza oxalátu metabolismus aminů metabolismus alkanů

Tabulka V

Vlastnosti a pravděpodobná identita integrálních polypeptidů zodpovědných za tvorbu superoxidu v membráně peroxisomu^{37,38}

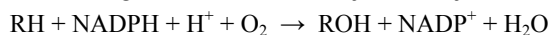
M_r (kDa)	Donor elektronů	Vlastnosti	Pravděpodobná identita
32,0	NADH	flavoprotein hemoprotein ferrikyanidreduktasa	monodehydroaskorbátreduktasa
29,0	NADPH	Cyt <i>c</i> reduktasa	Cyt P450 (?)
18,0	NADH	Cyt <i>c</i> reduktasa	cytochrom typu <i>b</i>

kde xanthinoxidasa katalyzuje oxidaci xanthinu a hypoxanthinu na kyselinu močovou, přičemž dochází k uvolnění superoxidu. Druhým místem je membrána peroxisomu obsahující malý transportní řetězec, který je tvořen flavoproteinovou NADH:ferrichelátreduktasou (EC 1.16.1.7) a cytochromem *b* (cit.³⁶). Za tvorbu superoxidu v membráně jsou zodpovědné tři nedávno identifikované integrální polypeptidy o molekulové hmotnosti 18, 29 a 32 kDa. Jejich vlastnosti a pravděpodobná identita jsou uvedeny v tabulce V (cit.^{37,38}).

Působením stresových faktorů bylo pozorováno intenzivnější uvolňování superoxidu, produkovaného membránou peroxisomu, do cytosolu. Superoxidový radikál rychle přechází na peroxid vodíku a kyslík³⁵.

6.4. Endoplazmatické retikulum

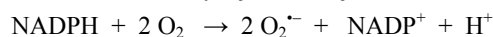
V endoplazmatickém retikulu probíhají procesy, jako např. oxidace, hydroxylace, dealkylace, deaminace a dehalogenace. Oxygenasy obsahující hem připojují atom kyslíku na organický substrát, přičemž jako donor elektronů jim slouží NAD(P)H. Nejlépe charakterizovaným enzymem v rostlinách obsahujícím cytochrom P450 je cinnamát-4-hydroxylasa (EC 1.14.13.11), která se účastní biosyntézy flavonoidů a ligninu. Celková reakce je následující:



Další enzymy s podobnou funkcí se účastní např. biosyntézy gibberellinů a sterolů. Aktivace kyslíku je základem předpokladem reakcí obsažených v syntéze těchto složitých metabolitů. Superoxid je produkován NAD(P)H-dependentním elektronovým transportem zahrnujícím cytochrom P450 (cit.³⁹). Po univalentní redukci substrátu (RH) a reakci s tripletovým kyslíkem se tvoří komplex P450-ROOH, který se může rozkládat na P450-RH a uvolnit tak superoxid.

6.5. Plazmatická membrána

Během stresové reakce tvoří rostlina superoxid pomocí NADPH-oxidasy vázané v plazmatické membráně. Tato rostlinná NADPH-oxidasa, homolog NADPH-oxidasy savčích neutrofilů, katalyzuje následující reakci²⁷:

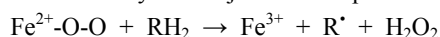


NADPH-oxidasa je vícesložkový komplex obsahující cytochrom b_{558} s proteinovými podjednotkami gp91^{phox} a p22^{phox} (cit.²⁷). Cytochrom b_{558} nekovalentně váže FAD a dvě hemové prostetické skupiny. Elektrony z NADPH předává cestou FAD a hemu na kyslík. Aktivace elektronového transportního řetězce vyžaduje několik cytosolových proteinů s regulační rolí. Jsou to p47 a p67 fosfoproteiny, spojené s buněčným cytoskeletem, p40 a dva malé proteiny vázané na GTP: Rac2 a Rap1A. Cytosolové proteiny tvoří komplex s cytochromem a dochází tak ke změnám, které iniciují tok elektronů přes membránu³⁶. Vnější povrch plazmatické membrány je nejpravděpodobnějším místem uvolnění superoxidu, který následně dismutuje na peroxid vodíku²⁷. Chemické inhibitory NADPH-oxidasy pod vlivem biotických a abiotických stresových faktorů blokuji nebo snižují tvorbu aktivních forem kyslíku⁴.

6.6. Buněčná stěna

Peroxidasas buněčné stěny produkují superoxidový radikál za spotřeby NADH v reakci závislé na manganaťých iontech²¹. Tvorba peroxidu vodíku peroxidasami buněčné stěny je závislá na pH. Elicitor přicházející na buněčný povrch je rozpoznán příslušnou molekulou receptoru, která způsobuje otevření iontových kanálů. Pohyb iontů vyvolává přechodnou alkalizaci exocelulárního prostoru, což vede k aktivaci peroxidas závislých na pH (cit.²³).

Mechanismus produkce peroxidu vodíku zahrnuje redukcí sloučeniny obsahující Fe-O-O podle rovnice³⁶:

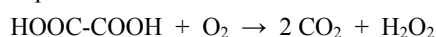


Při dostatečné zásobě reduktantu se tvorba peroxidu vodíku udržuje po dlouhou dobu. Tento reduktant se nepodařilo identifikovat, ale ví se, že to není NADPH, NADH, askorbát, glutathion ani cystein²³.

Nejčastějšími biosyntetickými reakcemi v buněčné stěně závislými na peroxidu vodíku je tvorba fenylypropionidních prekurzorů ligninu a následně jejich zesíťování a spojení do podjednotek tvořících lignin⁴⁰. Také některé metabolické dráhy odbourávající xenobiotické látky jsou lokalizovány v buněčné stěně.

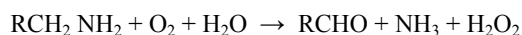
6.7. A P O P L A S T

Mezi zdroje aktivních forem kyslíku v apoplastu patří enzymy oxalát oxidasa a aminoxidasa^{21,36}. Oxalát oxidasa katalyzuje přeměnu oxalátu na oxid uhličitý a peroxid vodíku podle reakce:



Expresí genů oxalát oxidasy je indukována vlivem vysoké koncentrace solí, salicylátu a methyljasmonátem²¹.

Aminoxidasy jsou enzymy obsahující měď, katalyzující oxidaci široké řady biogenních aminů (mono-, di- a polyaminů) na odpovídající aldehyd za uvolnění amoniaku a peroxidu vodíku podle reakce:



Tyto enzymy jsou homodimery s podjednotkami velikosti 70–95 kDa. Každá podjednotka obsahuje Cu (II) a chinonový kofaktor topachinon (TPQ). Peroxid vodíku vznikající při oxidaci aminů může být přímo využit peroxidasami buněčné stěny při lignifikaci a zesílení buněčné stěny jak během normálního růstu, tak v reakci na vnější podnět jako je zranění nebo patogenez^{4,36}.

7. Katabolismus aktivních forem kyslíku

Rostliny vyvinuly účinné obranné systémy, které odstraňují aktivní formy kyslíku a chrání tak buňky proti oxidačnímu poškození^{4,41}. Tyto obranné systémy zahrnují enzymové i neenzymové antioxidanty, jejichž zastoupení ve specifických buněčných strukturách je uvedeno v tabulce VI. a VII. Antioxidační kapacita je velmi závislá na působení stresových faktorů, stejně jako na druhu, stadiu vývoje a na fyziologickém věku rostliny²¹.

Tabulka VI
Subcelulární lokalizace antioxidantů²

Antioxidant	Subcelulární lokalizace
Askorbát (vitamin C)	apoplast, cytosol, plastid, mitochondrie, peroxisom
β -Karoten	plastid
Redukovaný glutathion	cytosol, apoplast, mitochondrie, plastid, peroxisom
Polyaminy (putrescin)	cytosol, mitochondrie, jádro, plastid
α -Tokoferol (vitamin E)	buněčné membrány
Zeaxanthin	chloroplast

Superoxidové radikály jsou eliminovány superoxid-dismutasou v reakci produkující peroxid vodíku. Peroxid vodíku je přeměněn na kyslík a vodu katalasou nebo využit při oxidaci askorbátu. Enzymová redukce monodehydroaskorbátu probíhá v plastidech. Monodehydroaskorbát, který samovolně dismutuje na dehydroaskorbát, může reagovat s glutathionem (GSH) za tvorby askorbátu a oxidovaného glutathionu (GSSG) v reakci katalyzované dehydroaskorbátreduktasou. GSSG je redukován NADPH-dependentní glutathionreduktasou (EC 1.8.1.7). Singletový kyslík a hydroxylové ionty jsou eliminovány glutathionovou cestou. Poškození singletovým kyslíkem a hydroxylovými ionty je také sníženo neenzymovými antioxidanty, vitamínem E a karotenoidy⁴².

7.1. Antioxidanty

První skupinu ochranných mechanismů před oxidačním poškozením tvoří neenzymové systémy přímé deaktivace.

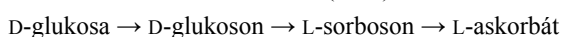
Tabulka VII
Subcelulární a orgánová lokalizace antioxidantních enzymů^{2,21,22,35}

Antioxidační enzym	Zkratka	Subcelulární a orgánová lokalizace
Asorbátperoxidasa	APX	cytosol, stroma plastidů, membrána plastidů, mitochondrie, peroxisomy, apoplast, kořenové hlízky
Katalasa	CAT	peroxisomy
Dehydroaskorbátreduktasa	DHAR	cytosol, stroma plastidů, kořenové hlízky
Glutathionreduktasa	GR	cytosol, mitochondrie, stroma plastidů, kořenové hlízky
Monodehydroaskorbátreduktasa	MDHAR	stroma plastidů, kořenové hlízky
Superoxiddismutasa	Cu/Zn-SOD Mn-SOD Fe-SOD	cytosol, peroxisomy, plastidy, kořenové hlízky mitochondrie plastidy

7.1.1. L-Asorbát

L-Asorbát (vitamin C) je důležitým vitamínem lidské stravy vyskytujícím se ve většině rostlinných buněk²⁰. Asorbát hraje hlavní roli v některých fyziologických procesech rostlin, jako je růst, diferenciaci a řada metabolických drah. Je významným reduktantem mnoha volných radikálů, čímž minimalizuje poškození způsobené oxidačním stresem.

Asorbát se syntetizuje v cytosolu z hexosových cukrů. Vyšší rostliny nejdříve mění D-glukosu na asorbát přímou konverzí, která udržuje uhlíkový řetězec ve stejném pořadí. Proces zahrnuje oxidaci C1 na D-glukose a tvorbu endiolu mezi C2 a C3 (cit.⁴³):



Za fyziologických podmínek se asorbát vyskytuje většinou v redukované formě. Schopnost uvolnit elektrony v řadě enzymových a neenzymových reakcí způsobuje, že asorbát je jednou z hlavních detoxifikačních sloučenin aktivních forem kyslíku ve vodné fázi²². Asorbát může přímo „odklízet“ superoxid, hydroxylové radikály, singletový kyslík a redukovat peroxid vodíku na vodu cestou askorbát-peroxidase reakce. V chloroplastu funguje askorbát jako kofaktor violaxantinu de-epoxidasy, která udržuje rozložení nadbytku excitační energie a regeneruje tokoferol z tokoferoxylového radikálu, čímž chrání membránu²⁰.

7.1.2. Karotenoidy

Karotenoidy velmi rychle odstraňují singletový kyslík z protein-pigmentových komplexů chloroplastů. Vznikající excitovaný tripletový stav karotenoidů se velmi snadno vrací do základního stavu za uvolnění tepla.

Byl prokázán inhibiční vliv β -karotenu na peroxidaci lipidů. β -Karoten se podílí na odstranění radikálů hydroperoxidů lipidů produkovaných během propagačního stupně reakce²².

7.1.3. Redukovaný glutathion

Glutathion je tripeptid (γ -glutamylcysteinylglycin)

hojně se vyskytující v cytosolu, mitochondriích a dalších buněčných složkách, kde vykonává různé funkce. GSH je hlavní zásobárnou síry a spolu se svou oxidovanou formou (GSSG) udržuje redoxní rovnováhu v buněčných odděleních. Díky redoxním vlastnostem se dvojice GSH/GSSG může účastnit regulace buněčného cyklu²⁰.

GSH zabraňuje peroxidaci lipidů odstraněním lipidových alkylů nebo lipoxylových radikálů. Dále předchází kovalentní vazbě různých xenobiotických molekul, které podléhají peroxidaci jednoelektronové reakci za tvorby radikálových meziproductů. Jednou z hlavních funkcí glutathionu je zabránění oxidaci thiolové skupiny enzymů, která způsobuje jejich inaktivaci²².

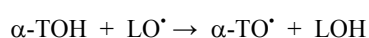
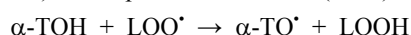
Glutathion odstraňuje cytotoxický peroxid vodíku a reaguje neenzymově i s dalšími aktivními formami kyslíku: singletovým kyslíkem, superoxidem a hydroxylovým radikálem.

Významná role glutathionu v antioxidační obraně spočívá v jeho schopnosti regenerovat jiný silný antioxidant, askorbát, cestou askorbát-glutathionového cyklu²⁰.

7.1.4. α -Tokoferol

α -Tokoferol (vitamin E) je nejdůležitějším antioxidantem, který je součástí lipidových membrán buněk²². Existují čtyři tokoferolové isomery (α -, β -, γ -, δ -) obsahující chromanový kruh a fytylový řetězec. Relativní antioxidační aktivita tokoferolových izomerů *in vivo* díky počtu methylových skupin připojených na fenolový kruh je následující: $\alpha > \beta > \gamma > \delta$ (cit.²⁰).

α -Tokoferol odstraňuje řetězově vznikající volné peroxylové radikály. Vodíkový atom z α -tokoferolu přechází na lipidový peroxylový (LOO \cdot) nebo lipoxylový radikál (LO \cdot) za tvorby odpovídajícího lipidového hydroperoxidu (LOOH) nebo lipidového alkoholu (LOH):



α -Tokoferol je metabolizován na α -tokoferolový radikál ($\alpha\text{-TO}\cdot$), který reaguje s dalším lipidovým peroxylo-

vým radikálem za vzniku neradikálových produktů LOOH, LOH a α -tokoferolchinonu (α -TOQ)²².



Askorbát a redukovaný glutathion ve spojení s tokoferolem synergisticky inhibují oxidační poškození buněčných membrán, pravděpodobně přes regeneraci α -tokoferolu²². Ireverzibilní oxidací α -tokoferolu lze z buňky odstranit zejména singletový kyslík⁴⁴.

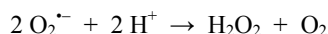
α -Tokoferol má v membráně také několik neantioxidačních funkcí. Jednou z nich je stabilizace membránových struktur. α -Tokoferol moduluje membránovou fluiditu podobně jako cholesterol, a také membránovou propustnost pro malé ionty a molekuly. Mezi další funkce tokoferolu patří inhibice proteinkinasy C (EC 1.14.16.2), inhibice buněčné proliferace a další²⁰.

7.2. Antioxidativní enzymy

Nejuniverzálnější ochranu proti poškození aktivními formami kyslíku ve všech částech buněk poskytují některé speciální enzymy a enzymové systémy (tab. VIII). Zabraňují iniciaci řetězových oxidací odstraňováním částečně redukovaných kyslíkových forem jako superoxid a peroxid vodíku²².

7.2.1. Superoxiddismutasa

Superoxiddismutasa patří mezi metaloenzymy katalyzující přeměnu superoxidového radikálu na peroxid vodíku:



Tato reakce probíhá o 4 řády rychleji než samovolná dismutace²⁰. Enzym superoxiddismutasa je přítomný v aerobních a fakultativně aerobních organismech²² a ve všech buněčných odděleních citlivých na oxidativní stres. Lokalizace isoenzymů SOD v rostlinné buňce je uvedena v tabulce VII. Isoenzymy SOD byly klasifikovány podle obsahu kovového kofaktoru jako Fe, Mn a Cu/Zn (cit.⁴¹).

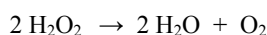
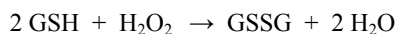
Tabulka VIII

Enzymy, které odstraňují a detoxifikují AFK²⁰

Enzym	EC číslo	Katalyzovaná reakce
Superoxiddismutasa	1.15.1.1	$\text{O}_2^{\bullet -} + \text{O}_2^{\bullet -} + 2\text{H}^+ \leftrightarrow 2\text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$
Katalasa	1.11.1.6	$2\text{H}_2\text{O}_2 \leftrightarrow \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$
Glutathionperoxidasa	1.11.1.12	$2\text{GSH} + \text{PUFA-OOH} \leftrightarrow \text{GSSG} + \text{PUFA} + 2\text{H}_2\text{O}$
Askorbátperoxidasa	1.11.1.11	$\text{AA} + \text{H}_2\text{O}_2 \leftrightarrow \text{DHA} + 2\text{H}_2\text{O}$
Monodehydroaskorbátreduktasa	1.6.5.4	$\text{NADH} + 2\text{MDHA} \leftrightarrow \text{NAD}^+ + 2\text{AA}$
Dehydroaskorbátreduktasa	1.8.5.1	$2\text{GSH} + \text{DHA} \leftrightarrow \text{GSSG} + \text{AA}$
Glutathionreduktasa	1.6.4.2	$\text{NADPH} + \text{GSSG} \leftrightarrow \text{NADP}^+ + 2\text{GSH}$
Fosfolipidhydroperoxid-glutathionperoxidasa	1.11.1.9	$2\text{GSH} + \text{PUFA-OOH} (\text{H}_2\text{O}_2) \leftrightarrow \text{GSSG} + 2\text{H}_2\text{O}$

Nedávno byl popsán nový isoenzym SOD ve *Streptomyces* s niklem v aktivním místě²⁰. Isoenzymy lze identifikovat na základě citlivosti k peroxidu vodíku a KCN. Cu/Zn-SOD je inaktivována KCN i H_2O_2 , Fe-SOD pouze H_2O_2 a Mn-SOD je rezistentní na oba inhibitory⁴⁵.

Peroxid vodíku vznikající v živočišných buňkách je odstraněn enzymem glutathionperoxidasou (EC 1.11.1.9) nebo katalasou.



Chloroplasty v rostlinách obsahují SOD, nikoli však katalasu nebo glutathionperoxidasu. Proto peroxid vodíku odstraňují pomocí askorbát-glutathionového cyklu, podrobněji popsáno dále.

7.2.2. Katalasa

Katalasa je tetramerní enzym obsahující hem²¹. Nachází se ve všech aerobních eukaryotech a účastní se odstraňování peroxidu vodíku produkovaného v peroxisomech oxidasami β -oxidace mastných kyselin, glyoxylátového cyklu nebo při katabolismu purinů. Může katalyzovat přímý rozpad peroxidu vodíku (katalasová aktivita) nebo oxidaci substrátů jako methanol, ethanol, formaldehyd, formát a nitrit peroxidem vodíku (peroxidasová aktivita)²¹.

Existují tři hlavní isoformy tohoto enzymu: CAT1, CAT2 a CAT3. Pro lepší orientaci mezi isoenzymy v různých druzích byla navržena základní nomenklatura²¹. Enzymy I. skupiny jsou lokalizovány v listech a zahrnuty do odstraňování peroxidu vodíku během fotorespirace. Enzymy II. skupiny se nacházejí hlavně v cévních svazcích a enzymy III. skupiny odstraňují peroxid vodíku z glyoxysomů a jsou hojně zastoupeny v semenech a mladých semenáčcích²¹.

Velmi dobře jsou prostudovány např. isoenzymy kukuřice, kde byly identifikovány tři různé isoformy (CAT-1, CAT-2 a CAT-3). Tyto tři isoenzymy jsou kódované třemi strukturálně nepodobnými geny: *Cat1*, ležícím na krátkém

rameni chromosomu 5, *Cat2* na krátkém rameni chromosomu 1, a *Cat3*, umístěným na dlouhém rameni chromosomu 1 (cit.¹).

7.2.3. Enzymy askorbát-glutathionového cyklu

Askorbát-glutathionový cyklus, také nazývaný Foyerův-Halliwellův-Asadův cyklus, odstraňuje peroxid vodíku z buněčných oddělení, ve kterých tento metabolit vzniká a ve kterých není přítomna katalasa. Tento cyklus používá neenzymové antioxidanty askorbát a glutathion v sérii reakcí katalyzovaných antioxidačními enzymy a probíhá v chloroplastech, peroxisomech, cytosolu a mitochondriích³⁵.

První enzym cyklu, askorbátperoxidasa, katalyzuje reakci peroxidu vodíku a askorbátu za vzniku monodehydroaskorbátu, případně dehydroaskorbátu. Není-li monodehydroaskorbát znovu redukován na askorbát monodehydroaskorbátreduktasou (EC 1.6.5.4), samovolně disproportionuje na askorbát a dehydroaskorbát. Ten je zpětně přeměňován na askorbát reakcí katalyzovanou dehydroaskorbátreduktasou v přítomnosti redukovaného glutathionu za vzniku jeho oxidované formy. Redukovaný glutathion je obnoven glutathionreduktasou v reakci závislé na NADPH (obr. 3, cit.⁴¹).

7.2.4. Glutathionperoxidasy

Mezi významné enzymové systémy uplatňující se zejména při zamezení peroxidace membránových lipidů patří rozsáhlá skupina glutathionperoxidas, které katalyzují redukci peroxidu vodíku, organických peroxidů a peroxidů lipidů s využitím glutathionu jako redukčního činidla. Podobně jako v živočišných systémech se glutathionperoxidasy u rostlin pravděpodobně také uplatňují při redoxní regulaci transkripční aktivity a signálních drah.

Významný podíl na zamezení poškození membránových struktur uplatňuje specifický enzym fosfolipidhydroperoxidglutathionperoxidasa (PHGPX) (EC 1.11.1.12)⁴⁶. Geny homologní s živočišnou PHGPX byly nalezeny v citrusech, tabáku, špenátu a *Arabidopsis*⁴⁷.

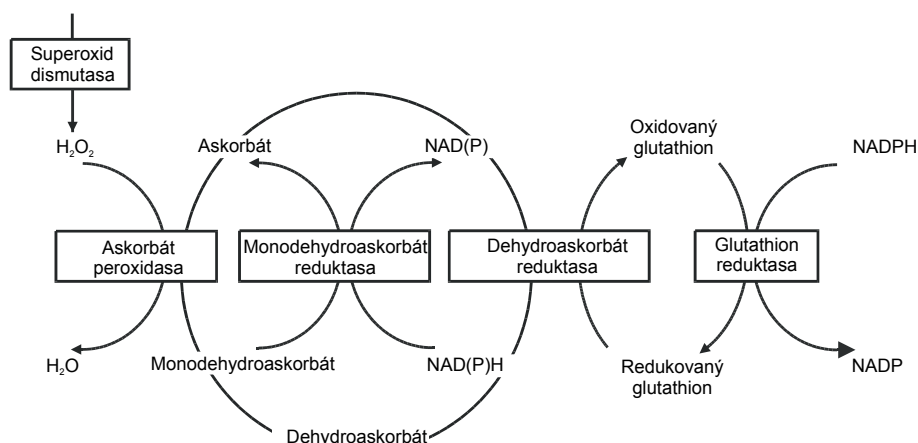
Selenocystein v aktivním místě živočišného enzymu je u rostlinného enzymu nahrazen cysteinem a specifická aktivita je o tři řády nižší. Produkty PHGPX-homologních genů z rajčete a slunečnice exprimovaných v *E.coli* redukuje v přítomnosti glutathionu hydroperoxydy mastných kyselin a fosfolipidů. Navíc, v přítomnosti thioredoxinu, jsou schopny se zvýšenou účinností kromě organických hydroperoxidů redukovat také peroxid vodíku. To ukazuje na další možné funkce těchto enzymů v propojení glutathion- a thioredoxin-dependentních redoxních systémů v rostlinných buňkách⁴⁸.

Kromě výše popsané cytosolové formy PHGPX byl enzym lokalizován také v chloroplastech, kde se pravděpodobně podílí na antioxidačním mechanismu při fotooxidativním stresu⁴⁹.

8. Závěr

V rostlinách existuje řada zdrojů tvorby aktivních forem kyslíku. Některé z nich jako fotosyntéza a respirace jsou součástí obecného metabolismu, jiné jsou naopak součástí biochemických pochodů probíhajících ve významném rozsahu pouze za stresových podmínek. Mezi nejdůležitější enzymové zdroje aktivních forem kyslíku patří NADPH oxidasa, aminoxidasa a peroxidasy vázané na buněčnou stěnu. AFK na jedné straně fungují v rostlinách jako signální molekuly, ale na straně druhé mohou při nadměrné a nekontrolované tvorbě rostlinnou buňku ohrozit svou toxicitou. Akumulace AFK může vést k peroxidaci membránových lipidů, k oxidaci proteinů, inhibici enzymů a destrukci nukleových kyselin. Z toho vyplývá důležitost mechanismů regulující produkci a katabolismus AFK v jednotlivých buněčných kompartmentech, jak v rámci signální funkce AFK v nízkých koncentracích, tak i pro snížení rizika možného poškození buněčných součástí vyplývající z vysoké koncentrace AFK v buňce při stresových podmínkách.

Mezi nejvýznamnější enzymy podílející se na katabo-



Obr. 3. Askorbát-glutathionový cyklus⁴¹

lismu AFK patří superoxiddismutasa a enzymy askorbát-glutathionového cyklu, přítomné ve většině buněčných organel, dále cytosolová glutathionperoxidasa a katalasa v peroxisomech. Proliferace peroxisomů za stresových podmínek potvrzuje významnou úlohu katalasy pro detoxifikaci vysokých koncentrací AFK. Antioxidanty jako askorbát a glutathion jsou nezbytné v obraně rostlin při oxidativním stresu. Zvýšení jejich koncentrace bylo prokázáno zejména v chloroplastech. Obecně je pro katabolismus AFK podstatné udržení poměru redukováných/oxidovaných forem askorbátu a glutathionu, což zajišťují s využitím redukčních vlastností NADPH enzymy glutathionreduktasa, monodehydroaskorbátreduktasa a dehydroaskorbátreduktasa.

Z hlediska obrany rostlin proti AFK jsou také nezanebatelné preventivní mechanismy umožňující snížení vlivů externích stresových faktorů. Jedná se o nejrůznější adaptační mechanismy na anatomické (pohyb a zkroucení listů, uložení stomat ve specializovaných útvarech), fyziologické (C4 a CAM metabolismus) a molekulární úrovni (změny ve fotosyntetickém aparátu).

Dosavadní výzkum tvorby a katabolismu AFK v rostlinných buňkách přinesl řadu výsledků a objasnil mnohé souvislosti, stále však existuje řada pochybností. Na svou odpověď čekají otázky týkající se např. buněčných receptorů signální funkce AFK, detailního mechanismu toxicity AFK vůči rostlinným buňkám a koordinace regulačních mechanismů hladiny AFK za fyziologických i stresových podmínek.

Tyto výsledky jsou součástí grantového projektu financovaného výzkumným záměrem MSM 6198959215.

LITERATURA

- Scandalios J. G.: *Adv. Genet.* 28, 1 (1990).
- Mittler R.: *Trends Plant Sci.* 7, 405 (2002).
- Neill S., Desikan R., Hancock J.: *Curr. Opin. Plant Biol.* 5, 388 (2002).
- Vranová E., Inzé D., Van Breusegem F.: *J. Exp. Bot.* 53, 1227 (2002).
- Semenza G.L.: *Cell* 98, 281 (1999).
- Pasqualini S., Piccioni C., Reale L., Ederli L., Della Tore G., Ferranti F.: *Plant Physiol.* 133, 1122 (2003).
- Vacca R. A., de Pinto M.C., Valenti D., Passarella S., Marra E., de Gara L.: *Plant Physiol.* 134, 1100 (2004).
- Levine A., Tenhaken R., Dixon R., Lamb Ch.: *Cell* 79, 583 (1994).
- Jabs T., Tschope M., Colling C., Hahlbrock K., Scheel D.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 4800 (1997).
- Barceló A. R.: *Free Radical Res.* 31, 147 (1999).
- Cabané M., Pireaux J. C., Léger E., Weber E., Dizen-gremel P., Pollet B., Lapiere C.: *Plant Physiol.* 134, 586 (2004).
- Shalata A., Mittova V., Volokita M., Guy M., Tal M.: *Physiol. Plant.* 112, 487 (2001).
- Chen Z., Gallie D. R.: *Plant Cell* 16, 1134 (2004).
- Brüggemann W., Beyel V., Brodka M., Poth H., Weil M., Stockhaus J.: *Plant Sci.* 140, 145 (1999).
- Alscher R. G., Erturk N., Heath L. S.: *J. Exp. Bot.* 53 (372), 1331 (2002).
- Procházka S., Macháčková I., Krekule J., Šebánek J., v knize: *Fyziologie rostlin*, str. 412. Academia, Praha 1998.
- Neill S. J., Desikan R., Clarke A., Hurst R. D., Hancock J. T.: *J. Exp. Bot.* 53, 1237 (2002).
- Göbel C., Feussner I., Rosahl S.: *J. Biol. Chem.* 278 (52), 52834 (2003).
- Delledonne M., Murgia I., Ederle D., Sbicego P. F., Biondani A., Polverari A., Lamb Ch.: *Plant Physiol. Biochem.* 40, 605 (2002).
- Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K. V.: *Ann. Bot.* 91, 179 (2003).
- Dat J., Vandenabeele S., Vranová E., Van Montagu M., Inzé D., Van Breusegem F.: *Cell. Mol. Life Sci.* 57, 779 (2000).
- Winston G. W., v knize: *Stress Responses in Plants: Adaptation and Acclimation Mechanisms*, str. 57. Wiley-Liss, 1990.
- Wojtaszek P.: *Biochem. J.* 322, 681 (1997).
- Haber F., Weiss J.: *Proc. R. Soc. London, Ser. A* 147, 332 (1934).
- Fenton H. J. H.: *J. Chem. Soc.* 65, 899 (1894).
- Fenton H. J. H.: *Proc. Chem. Soc.* 25, 224 (1899).
- Lamb Ch., Dixon R. A.: *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48, 251 (1997).
- Zhang Z., Collinge D. B., Thordal-Christensen H.: *Plant J.* 8, 139 (1995).
- Bachrach U., v knize: *Structure and functions of amine oxidases*. (Mondovi B., ed.), str. 5. CRC Press, Boca Raton 1985.
- Asada K.: *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50, 601 (1999).
- Möller I. M.: *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52, 561 (2001).
- Turrens J. F., Freeman B. A., Crapo J. D.: *Arch. Biochem. Biophys.* 217, 411 (1982).
- Loschen G., Azzi A., Floheßp L.: *FEBS Lett.* 33, 84 (1973).
- Loschen G., Azzi A., Richter C., Floheßp L.: *FEBS Lett.* 42, 68 (1974).
- Del Río L. A., Corpas F. J., Sandalio L. M., Palma J. M., Gómez M., Barroso J. B.: *J. Exp. Bot.* 53, 1255 (2002).
- Bolwell G. P., Wojtaszek P.: *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 51, 347 (1997).
- López-Huertas E., Sandalio L. M., Gómez M., del Río L. A.: *Free Radical Res.* 26, 497 (1997).
- López-Huertas E., Corpas F. J., Sandalio L. M., Gómez M., del Río L. A.: *Biochem. J.* 337, 531 (1999).
- Winston G. W., Cederbaum A. I.: *J. Biol. Chem.* 258, 1508 (1983).
- Gross G. G.: *Adv. Bot. Res.* 8, 25 (1980).
- Inzé D., Van Montagu M.: *Curr. Opin. Biotechnol.* 6,

- 153 (1995).
42. Buchanan B. B., Gruissen W., and Jones R. L., v knize: *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, str. 1189. American Society of Plant Physiologists, Riockville 2000.
43. Loewus F. A., v knize: *The Biochemistry of Plants* (Preiss J., ed.), str. 8. Academic Press, New York 1988.
44. Fryer M. J.: *Plant Cell Environ.* 15, 381 (1992).
45. Fridovich I.: *J. Biol. Chem.* 264, 7761 (1989).
46. Ursini F., Maiorino M., Brigelius-Flohe R., Aumann K. D., Roveri A., Schomburg D., Flohe L.: *Methods Enzymol.* 252, 38 (1995).
47. Mittova V., Guy M., Tal M., Volokita M.: *Free Radical Res.* 36, 195 (2002).
48. Herbetel S., Lennel C., Leblanc N., Julien J. J., Drevet J. R., Roedel-Drevet P.: *Eur. J. Biochem.* 269, 2414 (2002).
49. Baier M., Dietz K. J.: *Trends Plant Sci.* 4, 166 (1999).
50. Low P. S., Merida J. R.: *Physiol. Plant.* 96, 533 (1996).
51. Del Río L. A., Sandalio L. M., Corpas F. J., López-Huertas E., Palma J. M., Pastori G. M.: *Physiol. Plant.* 104, 673 (1998).
52. Bolwell G. P., Bindschedler L. V., Blee K. A., Butt V. S., Davies D. R., Gardner S. L., Gerrish Ch., Minibayeva F.: *J. Exp. Bot.* 53, 1367 (2002).

J. Piterková^a, K. Tománková^{a,b}, L. Luhová^a, M. Petřivalský^a, and P. Peč^a (^a*Department of Biochemistry*, ^b*Department of Botany, Palacký University, Olomouc*): **Oxidative Stress: Localisation of Reactive Oxygen Species Formation and Degradation in Plant Tissue**

This review summarizes the current knowledge on oxidative stress of plants from the viewpoint of formation and degradation of reactive oxygen species (ROS) in plant tissue. Special attention was paid to various non-enzymatic and enzymatic ROS-producing systems, including sites of ROS production (chloroplast, mitochondria, peroxisome, endoplasmic reticulum, plasma membrane, apoplastic space and cell wall). Defence reactions of plants, employing various antioxidants and antioxidant enzymes are also described in detail.

Česká společnost chemická

vypisuje výběrové řízení na místo tajemníka společnosti

Požadujeme:

- VŠ chemického nebo přírodovědného směru,
- dobré organizační a komunikační schopnosti,
- znalost práce s PC,
- znalost jazyků (především angličtiny) nutná.

Nabízíme zajímavou, různorodou práci v příjemném pracovním prostředí v centru Prahy, nástup 1.10.2005.

Příhlášky spolu s životopisem a přehledem dosavadní praxe zašlete prosím obratem na adresu sekretariátu (ČSCH, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1). Příhlášku je možné podat i elektronicky na e-mailovou adresu: mblahova@csvts.cz. Případné bližší informace lze získat na tel. čísle 222 220 184.

***Listeria monocytogenes* – NEBEZPEČNÝ PATOGEN A JEHO DETEKCE V POTRAVINÁCH**

**MARTINA BLAŽKOVÁ, LUDMILA KARAMONOVÁ,
LADISLAV FUKAL a PAVEL RAUCH**

Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-
technologická, Technická 5, 166 26 Praha 6
Ladislav.Fukal@vscht.cz

Došlo 4.4.05, přijato 27.5.05.

Klíčová slova: *Listeria monocytogenes*, virulentní protein,
imunoanalýza, potraviny

Obsah

1. Úvod
2. Charakteristika *Listeria monocytogenes*
3. Listerióza
4. Virulentní proteiny *Listeria monocytogenes*
5. Detekce *Listeria monocytogenes* v potravinách
 - 5.1. Klasické kultivační metody
 - 5.2. Moderní kultivační metody
 - 5.3. Molekulárně-genetické postupy
 - 5.4. Imunoanalýza
 - 5.5. Komerční soupravy
6. Závěr

1. Úvod

Listeria monocytogenes je obávaným patogením mikroorganismem vyskytujícím se v potravinách. Nejčastěji kontaminuje mléčárenské a masné výrobky. Onemocnění vyvolaná touto bakterií, tzv. listeriózy, jsou velmi závažná a zasahují specifické skupiny populace: staré lidi, děti, těhotné ženy a osoby s oslabenou imunitou. Způsobují záněty mozkových blan, septikémie a potraty. *Listeria monocytogenes* je jako původce alimentárních onemocnění (souvisejících s příjmem potravy) známa teprve od roku 1980. Odhaduje se, že je příčinou přibližně 0,5–1 % všech hromadných alimentárních onemocnění. Mezi těmito nemocemi má však zcela nesporné prvenství v procentu mortality, které dosahuje až 33 % z celkového počtu onemocnění. Alimentární listerióze podlehne více pacientů než salmonelóze. Zájem o listerie a zejména o jejich rychlou detekci v posledních letech velmi vzrostl. Příčinou jsou epidemie, které se objevují od osmdesátých let stále častěji.

2. Charakteristika *Listeria monocytogenes*

Rod *Listeria* zahrnuje v současné době 6 různých druhů¹ – *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri* a *L. grayi*. *L. monocytogenes* je podmíněným patogenem lidí i zvířat, *L. ivanovii* vyvolává onemocnění zejména u ovcí a skotu² a jen velmi výjimečně u lidí^{3,4}. Ostatní druhy jsou považovány za nepatogenní⁵.

Listerie jsou grampozitivní bakterie, které jsou úzce příbuzné s rody *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Streptococcus* a *Staphylococcus*¹. Buňky mají tvar krátkých až kokoidních tyčinek o velikosti 0,4–1,5 μm. Listerie nejsou acidorezistentní a nevytvářejí pouzdra ani spory. Jsou aerobní nebo fakultativně anaerobní^{6,7}.

Bakterie rodu *Listeria* produkují enzym katalasu, netvoří oxidasu ani ureasu, hydrolyzují eskulin a hippurát sodný, ale močovinu, kasein či želatinu nehydrolyzují⁸. Listerie jsou aktivně sacharolytické mikroorganismy a pro jejich růst je esenciální D-glukosa. Na základě schopnosti fermentovat různé sacharidy (D-xylosa, L-rhamnosa, α-methyl-D-mannosid a D-mannitol, D-arabitol, methyl-D-glukosid, ribosa, glukosa-1-fosfát, D-tagatosa) jsou rozlišovány jednotlivé druhy listerií. Další významnou vlastností některých listerií, jež přispívá k potvrzení druhu, je jejich hemolytická aktivita. *L. monocytogenes* tvoří, podobně jako *L. seeligeri*, diskretní zónu hemolýzy. Výraznou zónu tvoří pouze *L. ivanovii*, zbylé druhy listerií hemolytickou aktivitu nemají.

Kultivačně nejsou listerie náročné a jsou značně rezistentní ke změnám vnějšího prostředí. Rostou dobře na běžných kultivačních půdách (živný agar, krevní agar)⁹ a v širokém teplotním rozmezí (1 až 45 °C). Optimální teplota růstu se pohybuje okolo 37 °C (cit.¹⁰). Teplota velmi ovlivňuje patogenní vlastnosti bakterie. Většina kmenů se pomnožuje v rozmezí pH 5,6–9,6, přičemž optimální pH pro růst je 7,0 až 7,5 (cit.¹¹). Listerie se dobře množí i při vysokých koncentracích soli (10% NaCl)⁹, jsou schopné přežít i v 25% NaCl, 20 dní v suchém prostředí a 6 dní v destilované vodě¹¹.

Buněčná stěna a cytoplazmatická membrána *Listeria monocytogenes* obsahují, kromě různých látek lipidového charakteru, řadu proteinů, které jí umožňují proniknout do buněk hostitelského organismu, přežít v nich a dále se šířit. Takové proteiny, které jsou pro přežití a rozšiřování bakterie v hostitelském organismu nepostradatelné, označujeme jako virulentní.

3. Listerióza

Všechny druhy listerií, včetně *L. monocytogenes*, jsou v přírodě hojně rozšířeny. Mohou se vyskytovat ve vodě,

v půdě, na rostlinách, ale také ve střevním traktu volně žijících zvířat. V souvislosti s používáním nekvalitních krmiv, obsahujících velké množství listerií, lze pozorovat výskyt *L. monocytogenes* i u hospodářských zvířat. Onemocnění bývají zpravidla bezpříznaková, a tedy neléčená. To v konečném důsledku může vést až ke kontaminaci masa při porážce zvířete. Primárně kontaminované může být rovněž mléko a syrová zelenina (hnojená fekáliemi infikovaných zvířat). Potravinářské suroviny obsahující listerie mohou mít za následek znečištění prostředí potravinářských závodů v průběhu zpracovatelského procesu, což může způsobit sekundární kontaminaci potravin.

Hlavním způsobem přenosu na člověka je konzumace kontaminovaných potravin. Mezi potraviny s nejvyšším rizikem patří maso a tepelně neopracované masné výrobky, syrové mléko a mléčné výrobky (měkké a plísňové sýry), zelenina. K další kontaminaci a pomnožení listerií může dojít v průběhu přípravy pokrmů a uchovávání hotových jídel při pokojové teplotě¹⁰. Velmi nebezpečná je neonatální infekce, kde je zdrojem nákazy mateřský organismus (listerie pronikají placentou a infikují plodovou vodu). V nemocnicích hrozí nozokomiální infekce, při hospitalizaci nemocných pacientů je třeba dbát na protiepidemická opatření. Je zaznamenáno několik případů profesionálního onemocnění u veterinářů, ošetřovatelů a řezníků, kteří byli v přímém styku s nakaženými zvířaty^{9,12}.

4. Virulentní proteiny *Listeria monocytogenes*

Listerióza má většinou velmi progresivní a těžký průběh. Hlavní příčinou jsou účinné mechanismy, kterými *Listeria monocytogenes* infikuje savčího hostitele. Je schopna pronikat přes různé tělní bariéry (intestinální, hematoencefalitickou, placentární) a rychle se rozšiřuje po celém těle. K tomuto způsobu života je dobře vybavena celou řadou virulentních proteinů. Celý proces lze rozdělit do několika fází, z nichž některé jsou již známé, ale některé ještě čekají na své objasnění.

Infekce hostitelské buňky je zahájena internalizací bakterie. Pro vstup listerií do nefagocytujících hostitelských buněk je nezbytná přítomnost speciálních proteinů, které jsou schopné fagocytosu indukovat. Jde především o povrchové proteiny tzv. internaliny – internalin A (InIA, 800 aminokyselin, 88 kDa) a internalin B (InIB, 630 aminokyselin, 65 kDa). Dalším významným proteinem podílejícím se na internalizaci bakterie je p60 (484 aminokyselin, 60 kDa), který je dominantním extracelulárním proteinem listerií a je často využíván k diagnostice *Listeria monocytogenes*.

Poté, co je bakterie pohlcena, musí rychle uniknout z fagocytické vakuoly (fagosomu), která ji obklopuje, aby se mohla dále množit. Na uvolnění z vakuoly se podílí virulentní protein zvaný listeriolysin O (LLO, 529 aminokyselin, 58 kDa), který je schopen tvořit v membráně fagosomu póry. Celého děje se v některých typech hostitel-

ských buněk účastní ještě fosfolipasa C specifická pro fosfatidylinositol (PI-PLC, 317 aminokyselin, 35 kDa, EC 4.6.1.13). Po úniku z fagosomu se bakterie v hostitelské buňce množí. Aby mohly bakterie po pomnožení z buňky uniknout, musí se přemístit k její cytoplazmatické membráně. Jejich pohyb je zprostředkován proteinem ActA (actin assembly protein, 639 aminokyselin, 97 kDa). Tento protein polymerizuje buněčný aktin a vytváří za bakterií jakýsi chvost. Tím, jak se tato struktura prodlužuje, je bakterie přemísťována až k membráně. Výsledně se vytvoří výčnělek, který interaguje se sousední buňkou a je jí následně pohlcen. V nové hostitelské buňce je tedy bakterie obalena fagosomem se dvěma membránami, k jehož rozrušení bakterie používá své dva další virulentní proteiny – lecitinasu (PlcB, 264 aminokyselin, 29 kDa) a metaloproteasu (Mpl, 510 aminokyselin, 57 kDa). Po uvolnění do cytosolu se bakterie začíná množit a výše popsané děje se opakuje.

5. Metody detekce *Listeria monocytogenes* v potravinách

Stále nejčastějším způsobem stanovení *Listeria monocytogenes* v potravinách je použití klasických kultivačních metod. Na jejich základě je založena i metoda popsaná v ČSN EN ISO 11290-1:1999 (cit.¹³). Jelikož jde však o metody značně časově náročné (5–8 dnů) a včasná diagnostika je vzhledem k progresivnímu průběhu onemocnění listeriózou velmi důležitá, je v posledních letech vyvíjen značný tlak na vývoj nových, rychlých metod. Tyto metody je možno rozdělit podle principu stanovení na moderní kultivační techniky, metody molekulárně-genetické a techniky imunochemické.

5.1. Klasické kultivační metody

ČSN ISO 11290-1:1999

Prvním krokem je primární pomnožení listerií v selektivním médiu Fraser se sníženou koncentrací antibiotik. Toto pomnožení částečně inhibuje růst doprovodné mikroflóry a současně umožňuje oživení poškozených buněk listerií. Potom následuje selektivní sekundární pomnožení buněk v médiu Fraser s plnou koncentrací antibiotik. Výsledně pomnožená kultura je vždy naočkována na dvě selektivně-diagnostická agarová média (Oxford a PALCAM). Po inkubaci při teplotě 30, 35 nebo 37 °C se po 24 h (popř. 48 h) zjišťuje přítomnost kolonií *Listeria monocytogenes*. Každá z vybraných kolonií se očkuje na povrch neselektivního tuhého média TSYEA. Následuje kultivace 18–24 h při 35 nebo 37 °C. Potvrzení identity se provádí vhodnými morfologickými, fyziologickými a biochemickými testy (hemolýza, fermentace sacharidů). Celková doba stanovení se pohybuje mezi 5–8 dny a vzhledem k vyhledávání suspektních kolonií po sekundárním pomnožení vyžaduje zkušené pracovníky.

5.2. Moderní kulturační metody

Následující testy využívají k potvrzení příslušnosti k jednotlivým druhům listerií jejich biochemické vlastnosti. Jsou většinou založeny na průkazu charakteristického enzymu způsobujícího přeměnu substrátu, která je přímo či nepřímo doprovázena změnou zbarvení média. Substráty jsou buď obsaženy v sérii tekutých kulturačních médií (API Listeria test) nebo jsou součástí speciálních tuhých půd (Rapid L. mono test, ALOA™ a COMPASS L. mono agar).

API Listeria test¹⁴

Tento test firmy bioMérieux rozlišuje všechny druhy listerií běžnými biochemickými testy. Součástí komerčně dodávané sady je 10 mikrozkušavek. Každá obsahuje dehydratovaný chromogenní substrát pro testování enzymových reakcí nebo fermentace sacharidů, které jsou charakteristické pro jednotlivé druhy listerií.

Jednotlivé testy sledují buď přítomnost enzymů (arylamidasy, mannosidasy, glukosidasy), nebo fermentaci následujících sacharidů: D-arabitolu, D-xylosy, rhamnosy, α -methyl-D-glukosidu, ribosy, glukosa-1-fosfátu, D-tagatasy.

Očkuje se čistá bakteriální kultura, jež se nechá 18 až 24 h kultivovat při 37 °C. Vyhodnocení se provádí vizuálně, porovnáním barev v jednotlivých mikrozkušavkách s interpretační tabulkou, která je k testu přiložena. Listerie se nakonec identifikují s pomocí „seznamu profilů“, nebo s identifikačním softwarem.

RAPID L. mono test

Princip detekce na médiu Rapid L. mono (Sanofi Diagnostics Pasteur) je založený na specifickém průkazu aktivity enzymu fosfolipasy (projevující se modrým zbarvením kolonií) a na schopnosti využívat xylosu, což se pozná tak, že se okolo bakteriálních kolonií vytvoří patrná žlutá zóna. Složení selektivního média inhibuje růst většiny interferující mikroflóry (G^+ , G^- bakterie, kvasinky i plísně). *L. monocytogenes* vykazuje fosfolipasovou aktivitu a není schopná využívat xylosu, její kolonie mají proto čistě modrou barvu bez doprovodné „halo“ zony. Díky fosfolipasové aktivitě a schopnosti využívat xylosu tvoří buňky *L. ivanovii* modrozelené kolonie se žlutou „halo“ zónou. Kolonie jiných druhů rodu *Listeria* mají barvu bílou; *L. seeligeri* a *L. welshimeri* s „halo“ zónou, *L. innocua* a *L. grayi* „halo“ zónu netvoří.

ALOA a COMPASS L. mono Agar

ALOA (AES Laboratoire) a COMPASS L. mono Agar (Solabia) jsou diagnostická chromogenní média pro izolaci *Listeria* spp. a identifikaci *Listeria monocytogenes*. Jsou založeny na průkazu β -glukosidasy, obsažené v buňkách všech druhů rodu *Listeria* a způsobující modré až modrozelené zbarvení kolonií. *Listeria monocytogenes* a *Listeria ivanovii* navíc tvoří působením fosfolipasy C specifické pro fosfatidylinositol (PI-PLC) kolem kolonií žlutou „halo“ zónu. Součástí obou agarů je i inhibiční sys-

tém, který znemožňuje v prvních 24 hodinách inkubace růst jiných bakterií (např. *Bacillus*) a specificky i *L. ivanovii*. Po 24 h kultivaci při 37 °C jsou typické kolonie (modré se žlutou „halo“ zónou) určeny jako *Listeria monocytogenes*. Při jejich absenci kultivace při 37 °C pokračuje dalších 12–24 h, kdy tvoří typické kolonie také *L. ivanovii*. Při objevení těchto kolonií je pro rozlišení obou druhů nutno použít L. Monodisk test (AES Laboratoire, Francie). V něm se *L. ivanovii*, na rozdíl od *L. monocytogenes*, projeví žlutým zbarvením.

5.3. Molekulárně-genetické metody

Molekulárně-genetické metody umožňují určit mikroorganismus na základě jeho genetické informace. K tomu jsou využívány různé molekulárně-genetické techniky, z nichž nejvýznamnější jsou hybridizace a polymerasová řetězová reakce (PCR). Tyto metody jsou založeny na specifické komplementaci (hybridizaci) mezi hledaným úsekem jednovláknové nukleové kyseliny z lyzovaných buněk bakterie a sondou. Sondou rozumíme synteticky připravenou krátkou sekvenci nukleotidů komplementární k hledanému úseku. Tyto metody využívají pro specifickou detekci *L. monocytogenes* charakteristické sekvence jejího genomu. Nález takové sekvence ve zkoumaném materiálu indikuje přítomnost *L. monocytogenes*.

Molekulárně-genetické metody jsou vysoce citlivé v případě použití čistých bakteriálních kultur, ale při stanovení ve složitých matricích (např. v některých potravinách) se citlivost výrazně snižuje. Proto je často nezbytné mikroorganismy před vlastní analýzou separovat. Lze při tom využít jak metody fyzikálně-chemické (např. filtrace, extrakce), tak metody bioafinitní (např. imunochemické).

Hybridizace

Jak již bylo uvedeno, základem metody je hybridizace mezi hledaným úsekem jednovláknové nukleové kyseliny (DNA nebo RNA) a sondou. Sonda, komplementární k hledanému úseku, bývá značena např. chemiluminiscenční značkou, jež umožní finální detekci. Po hybridizaci je přidáno selekční činidlo, které slouží k rozlišení hybridizované a volné sondy, případně může být nenavázaná sonda separována¹⁵.

Polymerasová řetězová reakce (PCR)

Polymerasová řetězová reakce (z angl. polymerase chain reaction – PCR) je enzymová metoda umožňující namnožení definovaného úseku DNA *in vitro*. Vlastní PCR předchází izolace bakterie ze zkoumaného vzorku (matrice může snižovat citlivost stanovení), její pomnožení v tekutém médiu a lýza. Lýzované buňky (popř. DNA izolovaná z těchto buněk) jsou pak analyzovány PCR. Prvním krokem metody je oddělení vlákna dvoušroubovice DNA teplotní denaturací (při teplotě přesahující 90 °C). Následuje hybridizace primeru (krátká sekvence nukleotidů) ke komplementárnímu úseku DNA (45–65 °C) a extenze připojeného primeru termostabilní DNA polymera-

sou (většinou při 72 °C), kdy probíhá syntéza druhého řetězce DNA (cit.¹⁶).

Produkty PCR bývají nejčastěji detegovány elektroforezou v agarosovém gelu v horizontálním uspořádání v přítomnosti ethidiumbromidu. Po rozdělení je elektroforeogram vyvolán UV světlem. Lze také použít radioaktivně nebo fluorescenčně značené primery a po elektroforetickém dělení lze výsledek PCR detegovat autoradiograficky, nebo měřením fluorescence. Další možností je použití hybridizačních sond, značených na konci 5' křenovou peroxidasou.

Amplifikace specifických úseků RNA

Tato metoda (angl. nucleic acid sequence-based amplification – NASBA) využívá k amplifikaci specifický úsek bakteriální RNA. Tento úsek RNA je v prvním kroku přepsán do komplementární DNA (cDNA) reverzní transkriptasou. Ribonukleasa H z *Escherichia coli* (RNAasa H) uvolní cDNA z hybridu DNA-RNA. Po syntéze komplementárního řetězce je cDNA DNA-dependentní RNA-polymerasou přepsána zpět do molekul RNA. Několikanásobným opakováním těchto kroků dochází k namnožení cílového úseku. Jako sondy jsou využívány krátké oligonukleotidové sekvence komplementární ke specifickým sekvencím bakteriální RNA. Používají se dva typy primerů – první obsahuje „záchytnou“ sekvenci komplementární k RNA a sekvenci promotoru pro polymerasu RNA, druhý pak obsahuje pouze „záchytnou“ sekvenci. Detekce se provádí např. elektroforézou v agarosovém gelu¹⁷.

Ligasová řetězová reakce (LCR)

Tato metoda je založena na podobném principu jako PCR. Hlavní rozdíl spočívá ve využití dvou párů primerů (PCR využívá dvou primerů). Primery, které tvoří pár, jsou komplementární ke dvěma sousedním oblastem stejného vlákna DNA. Dvojice primerů nepřekrývá celý hledaný úsek DNA, na jejich styku je ponechána mezera, která je termostabilní polymerasou DNA doplněna. Po tomto kroku následuje spojení obou úseků termostabilní ligasou. Mnohonásobným opakováním tohoto postupu se množství hledaného úseku DNA ve vzorku zvětšuje¹⁸.

5.4. Imunochemické techniky

Mezi největší přednosti imunochemických stanovení patří rychlost, jednoduchost provedení, možnost stanovení velkého počtu vzorků současně a především možnost detekce ve složitých matricích. Rozšíření těchto technik podporuje také nenáročnost na laboratorní vybavení a relativně nízká cena. Základem všech imunochemických metod je interakce protilátek s antigenem. Při těchto metodách jsou používány *in vitro* polyklonální, monoklonální nebo rekombinantní protilátky vytvořené proti antigenním strukturám, které jsou charakteristické pouze pro bakterie rodu *Listeria*¹⁹. Před vlastní imunodetekcí je nutné bakterie namnožit ve vzorcích potravin běžnými kultivačními metodami.

Enzymová imunoanalýza

Při této metodě (angl. Enzyme linked immunosorbent assay – ELISA) je jeden z imunoreaktantů vázán na tuhou fázi a druhý je značený enzymem. Detekce je prováděna prostřednictvím enzymové reakce.

V současné době je pro detekci bakterií nejčastěji využíván přímý nekompetitivní (tzv. sendvičový) postup²⁰. Ten se skládá z několika po sobě jdoucích kroků:

V prvním kroku jsou na tuhou fázi (nejčastěji stěnu jamky v mikrotitrační destičce) imobilizovány protilátky. Poté je přidán vzorek obsahující bakterie. Buňky *Listeria monocytogenes* interagují s protilátkou. Po odstranění nevázaných složek následuje aplikace protilátky značené enzymem. K detekci je využita enzymová reakce, kdy je bezbarvý substrát přeměněn na barevný produkt.

Imunochromatografická technika na membráně

Tato metoda (angl. lateral flow immunoassay) je velmi oblíbená pro svoji rychlost a technickou jednoduchost provedení²⁰.

Nejčastěji je opět využíváno sendvičové uspořádání. První typ protilátky je imobilizován na povrch membrány, druhá protilátka je konjugována s barevnými latexovými částicemi a je nanášena spolu se vzorkem na počátek membrány. Tato směs se pohybuje membránou působením kapilárních sil. Pokud je ve vzorku přítomen antigen, specificky interaguje s označenou protilátkou. Vzniklý imunokomplex se následně naváže na imobilizovanou protilátku, což se projeví vznikem barevné linky v testovací oblasti.

Imunosenzor

V posledních letech se objevují snahy o využití imunochemických biosenzorů (imunosenzorů). Jde o rozmanitá bioelektronická zařízení umožňující sledovat přímo či nepřímo interakce mezi specifickými protilátkami a antigenem. Jeden z imunoreaktantů je imobilizován na povrchu vhodného nosiče a následně jsou monitorovány změny jeho elektrických, optických či piezoelektrických vlastností v závislosti na průběhu imunochemického děje. Přestože již několik imunosenzorů našlo v praxi uplatnění při stanovení různých látek, vzhledem k problémům při vývoji a použití imunosenzorů pro detekci bakterií jsou tyto techniky stále spíše otázkou budoucnosti²¹.

5.5. Komerční testy pro detekci listerií v potravinách

Na základě výše uvedených rychlých metod detekce byly sestaveny komerční soupravy pro stanovení listerií v potravinách. Soupravy dostupné v současné době na trhu jsou uvedeny v tab. I. Jsou rozděleny podle principu stanovení na molekulárně-genetické a imunochemické. U každého testu je uvedeno, zda slouží k průkazu celého rodu *Listeria*, nebo zda lze specificky odlišit *Listeria monocytogenes* od ostatních, nepatogenních druhů listerií.

Dalším důležitým parametrem při výběru metody je její celková časová náročnost. Mezinárodně uznávaným

Tabulka I
Přehled komerčně dostupných diagnostických souprav k detekci *Listeria monocytogenes*

Test	Princip stanovení	Doba detekce ^a	Specifita	Výrobce
molekulárně-genetický				
<i>AccuProbe Listeria monocytogenes</i>	hybridizace a chemiluminiscenční detekce	37 h	<i>L. monocytogenes</i>	GeneProbe, Inc
<i>BAX for L. monocytogenes</i>	PCR	45 h	<i>L. monocytogenes</i>	Qualicon, Inc.
<i>Gene-Trak Listeria Assay</i> ^b	hybridizace a spektrofotometrická detekce	42–50 h	<i>Listeria</i>	Neogen Corp.
<i>Gene-Trak Listeria monocytogenes Assay</i> ^b	hybridizace a spektrofotometrická detekce	48 h	<i>L. monocytogenes</i>	Neogen Corp.
<i>Probelia PCR System</i>	PCR a spektrofotometrická detekce	28 h	<i>L. monocytogenes</i>	Sanofi Diagnostics Pasteur
imunochemický				
<i>Assurance Listeria EIA</i> ^b	nepřímá sendvičová ELISA	50 h	<i>Listeria</i>	BioControl Systems, Inc.
<i>EIA-Foss for Listeria</i> ^b	imunomagnetická separace a přímá sendvičová ELISA	50 h	<i>Listeria</i>	Foss North America, Inc.
<i>Listeria Rapid Test</i> ^b	imunochromatografická detekce	43 h	<i>Listeria</i>	OXOID, Inc.
<i>Listeria-Tek</i> ^b	přímá sendvičová ELISA	50 h	<i>Listeria</i>	Organon Teknika Corp.
<i>ListerTest</i> ^b	imunomagnetická separace a přímá sendvičová ELISA	24 h	<i>Listeria</i>	Vicam
<i>Pathalert Listeria monocytogenes</i>	nepřímá sendvičová ELISA	42–52 h	<i>Listeria</i>	Diagnostica, Merck
<i>Reveal for Listeria</i>	imunochromatografická detekce	43 h	<i>Listeria</i>	Neogen Corp.
<i>Singlepath Listeria</i>	imunochromatografická detekce	37–49 h	<i>Listeria</i>	Merck
<i>Transia Plate Listeria</i>	přímá sendvičová ELISA	46 h	<i>Listeria</i>	Diffchamb
<i>Transia Plate Listeria monocytogenes</i>	přímá sendvičová ELISA	46 h	<i>L. monocytogenes</i>	Diffchamb
<i>TECRA Listeria Visual Immuno Assay</i> ^b	přímá sendvičová ELISA	48–50 h	<i>Listeria</i>	Tecra Diagnostic
<i>TECRA Unique Listeria</i>	dipstick	32 h	<i>Listeria</i>	Tecra Diagnostic
<i>Vidas LIS</i>	přímá sendvičová ELISA	50–54 h	<i>Listeria</i>	BioMérieux Vitek
<i>Vidas LMO</i> ^b	přímá sendvičová ELISA	50–54 h	<i>L. monocytogenes</i>	BioMérieux Vitek
<i>Visual immunoprecipitate (VIP) for Listeria</i> ^b	imunochromatografická detekce	48 h		BioControl Systems, Inc.
ostatní				
<i>Dynabeads anti-Listeria</i>	imunomagnetická separace a kultivace a standardní ověření	24 h	<i>Listeria</i>	Dynal Biotech ASA

^a Doba detekce zahrnuje i pomnožení mikroorganismů před vlastní detekcí, ^b metody schválené AOAC (Asociace analytických chemiků)

standardem pro patogeny (začleněným i v ČSN ISO 10560:1996 – Mléko a mléčné výrobky) je průkaz jediné buňky *Listeria monocytogenes* ve 25 g (popř. 25 ml) vzorku potravin. Jelikož je velmi obtížné zachytit jedinou buň-

ku v tak velkém objemu vzorku, předchází obvykle každému stanovení selektivní pomnožení buněk na úroveň, která umožní jednodušší detekci. Tento postup je zahrnut ve většině uváděných souprav.

Zde se přednostně soustředíme na metody, u kterých bylo uvedeno, že jsou ověřeny organizací Association of Analytical Chemists (AOAC).

Souprav ke specifické detekci *L. monocytogenes* bylo až dosud vyvinuto šest. Čtyři jsou založeny na molekulárně-genetickém principu. *AccuProbe Listeria monocytogenes* (GeneProbe) a *Gene-Track Listeria monocytogenes Assay* (Neogene) využívají hybridizace s chemiluminiscenční či spektrofotometrickou koncovou detekcí. *BAX assay* (Qualicon) a *Probelia PCR System* (Sanofi Diagnostics Pasteur) jsou metody založené na PCR. Další dvě soupravy využívají imunochemické detekce. *VIDAS LMO* využívající protilátky je součástí poloautomatizovaných imunochemických stanovení série *VITEK* firmy BioMérieux. Testovaný vzorek je nejprve pomnožen v tekutém médiu a vzorek tohoto média je poté aplikován na reagenční proužek s imobilizovanou protilátkou. Analýza je automatizována pomocí přístroje *VITEK* s fluorescenční koncovou detekcí. Druhou je souprava *Transia Plate Listeria monocytogenes* (Diffchamb), která je založená na přímé metodě sendvičové ELISA s protilátkami proti specifickému peptidovému sekvencím extracelulárního proteinu p60. Protilátky tedy neinteragují přímo s buňkou, ale s proteinem přítomným v roztoku.

Soupravy, které umožňují detegovat celý rod *Listeria* jsou mnohem početnější. Dvě z nich, *Gene-Track Listeria Assay* (Neogene) a *Probelia PCR system* (Sanofi Diagnostics Pasteur) jsou založeny na molekulárně-genetických metodách. Ostatní soupravy využívají imunochemický princip. *VIDAS* pro celý rod *Listeria* (*VIDAS LIS*) je rovněž dostupný pro přístroj *VITEK*, založený na stejném principu jako výše uvedený specifický test na *L. monocytogenes*. Ten však získal od AOAC osvědčení PTM (performance tested method, číslo licence 981202). Jiný automatizovaný imunodiagnostický systém, *EIAFoss* od Foss Electric, má modul pro detekci *Listeria monocytogenes* a je od AOAC certifikovaný pro maso a mléko pod označením PTM 980801. Ostatní, neautomatizované testy lze rozdělit mezi ELISA testy (s vizuální nebo přístrojovou koncovkou) a ostatní formáty, jako jsou magnetické částice a tyčinky ze syntetických polymerů (dipsticks). *Tecra Listeria Visual Immunoassay* (Tecra Diagnostics) je upravena jako ELISA v mikrotitračních destičkách (rozdělených na jednotlivé řádky), založená na polyklonálních protilátkách s vizuální nebo spektrofotometrickou detekcí. Tato souprava získala od AOAC osvědčení OM (official method) pro detekci rodu *Listeria* v potravinách s číslem licence 995.02. *Assurance EIA* (BioControl) je podobná metoda, která je AOAC certifikovaná jako OM 995.02. *Listeria-Tek* (Organon-Teknika) je založena na ELISA v mikrotitračních destičkách s monoklonálními protilátkami, opět s fometrickou detekcí. Má licenci AOAC (OM 994.03) pro použití při analýze mléčných, mořských a masných produktů. Komerčně dostupné jsou i další testy, než je ELISA. Např. v testu *Unique* (Tecra) se používají plastické tyčinky ze syntetických polymerů s imobilizovanými protilátkami, které jsou schopny zachytit antigen z média obsahujícího namnožené buňky listerií.

Barevné linky na povrchu těchto tyčinek znamenají průkaz listerií v analyzovaném vzorku. Příkladem imunochromatografického testu jsou *Listeria Rapid Test* od firmy Oxoid a *Visual Immunoprecipitate Assay* (BioControl). Oba mají AOAC licenci: Oxoid PTM 960701 a BioControl OM 997.03.

Na závěr je nutno zmínit *ListerTest* (Vicam) a *Dynabeads anti-Listeria* (Dynal Biotech ASA) pracující na odlišném principu: protilátky imobilizované na magnetických částicích zachytí buňky listerií z upraveného potravinového vzorku (princip imunomagnetické separace – IMS). Magnetické částice se zachycenými buňkami jsou poté přeneseny na povrch pevné půdy. Při použití *ListerTest* následuje po inkubaci imunochemická detekce. U *Dynabeads anti-Listeria* jsou po inkubaci vyhledávány kolonie charakteristické pro listerie, které jsou ověřovány standardními biochemickými a serologickými metodami. Tyto testy jsou dobrou ukázkou flexibility využití protilátek v rychlých mikrobiologických testech.

6. Závěr

Mikroorganismy jsou stálým a trvalým nebezpečím ohrožujícím zdraví obyvatelstva a patří dle každoročních zpráv WHO k nejrizikovějším faktorům i ve srovnání s takovými civilizačními chorobami jako je rakovina a AIDS. Zavedení systému kritických kontrolních bodů (angl. hazardous analysis critical control points – HACCP) systému do potravinářských technologií (v ČR pro výrobu povinné od 1.1.2000) vyvolalo tlak na urychlený vývoj metod pro rychlé a specifické stanovení sledovaných parametrů. V oblasti mikrobiologie se pozornost soustředila na potravní patogeny, jejichž stanovení klasickými kultivačními normovanými metodami trvá běžně 5–8 dní (dle náročnosti vyšetření). Z moderních metod, které mohou výrazně snížit dobu stanovení, jsou perspektivní imunochemické a molekulárně-genetické metody, které mají vysokou specifitu. Jejich využívání bylo ověřeno v řadě laboratoří a v současné době jsou ve fázi konečné přípravy návrhy norem založených na těchto stanoveních. Pro snadné a pohodlné používání těchto metod přímo ve výrobních závodech se firmy zabývající mikrobiální detekcí soustředily na přípravu komerčních souprav na principu molekulárně-genetickém nebo imunochemickém a dále na výrobu selektivních specifických chromogenních medií. Vývoj mikrobiologické diagnostiky jde jednoznačně touto cestou.

Práce vznikla s podporou GA ČR (číslo grantu 525/03/0350) a grantem MŠMT (MSM 6046137305).

LITERATURA

1. Vázquez-Boland J. A., Kuhn M., Berche P., Chakraborty T., Domínguez-Bernal G., Goebel W., González-Zorn B., Wehland J., Kreft J.: Clin. Microbiol. Rev. 14, 584 (2001).

2. Alexander A. V., Walker R. L., Johnson B. J., Charlton B. R., Woods L. W.: *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **200**, 711 (1992).
3. Cummins A. J., Fielding A. K., McLauchlin J.: *J. Infect.* **28**, 89 (1994).
4. Chand P., Sadana J. R.: *Vet. Rec.* **145**, 83 (1999).
5. Rocourt J., Grimont P. A. D.: *Int. J. Syst. Bacteriol.* **33**, 866 (1983).
6. Collins M. D., Wallbanks S., Lane D. J., Shah J., Nietupski R., Smida J., Dorsch M., Stackebrandt E.: *Int. J. Syst. Bacteriol.* **41**, 240 (1991).
7. Prats N., Briones V., Blanco M. M., Altimira J., Ramos J. A., Domínguez L., Marco A.: *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **11**, 5 (1992).
8. Zahradnický J.: *Mikrobiologie a epidemiologie*. Avicenum, Brno 1987.
9. Bednář M., Fraňková V., Schindler J., Souček A., Vávra J.: *Lékařská mikrobiologie*. Marvil, Praha 1996.
10. Tomancová I.: *Problematika Listeria monocytogenes v potravinách*. LAST – Vydavatelství potravinářské literatury, Brno 1991.
11. Waites W. M., Arbutnott J. P.: *Lancet* **336**, 722 (1990).
12. Šrámová H., Beneš Č., Karpíšková R.: *Zpráva SZÚ*, Praha 2000.
13. ČSN ISO 11290-1: *Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metoda průkazu a stanovení počtu listeria monocytogenes – Část 1: Metoda průkazu*, leden 1999.
14. bioMérieux: *Návod k API Listeria*. Francie 1998.
15. Okwumbua O., Swaminathan B., Edmonds P., Wenger J., Hogan J., Alden M.: *Res. Microbiol.* **143**, 183 (1992).
16. Ruml T.: *Laboratoř z genového inženýrství*. VŠCHT Praha, Praha 1997.
17. Uyttendaele M., Schukkink R., Gemen van B., Debevere J.: *Int. J. Food Microbiol.* **54**, 2933 (1988).
18. Wiedmann M., Barany F., Batt C. A.: *Appl. Environ. Microbiol.* **59**, 2743 (1993).
19. Karamonová L., Blažková M., Fukal L., Rauch P., Greifová M., Horáková K., Tomáška M., Roubal P., Brett G. M., Wyatt G. M.: *Food Agric. Immunol.* **15**, 167 (2003).
20. Mičková B., Rauch P., Fukal L.: *Chem. Listy* **98**, 970 (2004).
21. Koubová V., Brynda E., Karasová L., Škvor J., Homola J., Dostálek J., Tobiška P., Rošický J.: *Sensors and Actuators B* **74**, 100 (2001).

M. Blažková, L. Karamonová, L. Fukal, and P. Rauch (Department of Biochemistry and Microbiology, Institute of Chemical Technology, Prague): ***Listeria monocytogenes – Dangerous Pathogen and Its Detection in Foods***

The aim of the review is to characterize *Listeria monocytogenes* as one of the most dangerous microbial contaminants in foods. A survey of methods for its detection is given. Molecular genetic methods and immunoassay techniques are recognized as promising methods for *Listeria monocytogenes* screening in food samples. A list of commercially available kits is presented.

Impaktový faktor Chemických listů opět narostl !

Na ISI Web of Knowledge (<http://isi17.isiknowledge.com/portal.cgi?DestApp=JCR&Func=Frame>) byly aktualizovány hodnoty impaktových faktorů za rok 2004. Je potěšitelné, že Chemické listy opět potvrdily každoroční vzrůstající trend, který nastartovaly v roce 1998 (IF₁₉₉₈ = 0,108). Současná hodnota činí:

$$IF_{2004} = 0,348.$$

Zvýšení proti roku 2003 je sice nepatrné (IF₂₀₀₃ = 0,345) a naše možnosti se zřejmě blíží k limitě, ale stále si udržujeme první místo mezi impaktovanými časopisy vydávanými v České republice v národním jazyce.

redakce

ČERVENĚ A MODŘE ZBARVENÉ BRAMBORY – VÝZNAMNÝ ZDROJ ANTIOXIDANTŮ V LIDSKÉ VÝŽIVĚ

JAROMÍR LACHMAN^a, KAREL HAMOUZ^b
a MATYÁŠ ORSÁK^a

^aKatedra chemie, ^bKatedra rostlinné výroby, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6
lachman@af.czu.cz

Došlo 7.3.05, přijato 2.6.05.

Klíčová slova: červené a modré brambory, antioxidanty, polyfenoly, anthokyaniny, šlechtění, použití v potravinářském a nepotravinářském průmyslu, fungicidní vlastnosti

Obsah

1. Úvod
2. Brambory – významný zdroj antioxidantů v lidské výživě
3. Anthokyanová barviva v barevných hlízách brambor
4. Antioxidační aktivita anthokyanů brambor
5. Význam antioxidantů brambor
6. Šlechtění nových odrůd brambor s červeně a modře zbarvenými hlízami
7. Role anthokyanů v bramborách a jejich potravinářské a nepotravinářské použití
8. Závěr

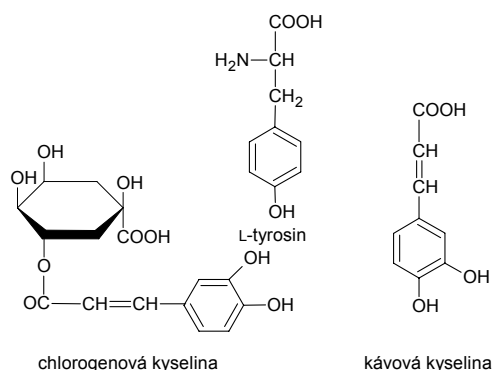
1. Úvod

Přírodní antioxidanty přítomné v potravinách a dalším biologickém materiálu vyvolaly značný zájem kvůli svým potenciálním nutričním a terapeutickým účinkům. Antioxidanty podle své chemické struktury mohou být rozděleny na polyfenoly (flavonoidy, anthokyaniny, fenolkarboxylové kyseliny a kumariny), karotenoidy (karoteny – prekursory vitamínu A a xanthofyly) a tokoferoly (vitamin E). Silnou antioxidační aktivitu má také L-askorbová kyselina (vitamin C) a selen. Antioxidanty mohou zachycovat radikály dříve, než mohou škodit a mohou bránit rozšíření oxidačnímu poškození. Bylo zjištěno, že antioxidanty zpomalují, blokují nebo zabraňují oxidačním změnám látek v lidském těle a buňkách. Polyfenolické sloučeniny, zvl. flavonoidy, jsou účinnými antioxidanty¹ díky své schopnosti zachytávat volné radikály mastných kyselin a reaktivních forem kyslíku²⁻⁴. Obsah antioxidantů v potravinách zpomaluje ve značné míře atherosklerotické procesy, inhi-

buje akumulaci cholesterolu v krevním séru a zvyšuje rezistenci cévních stěn proti jejich lámavosti. Mnohé antioxidanty snižují riziko onemocnění koronárních cév tím, že zachycují a neutralizují volné radikály. Hlavními antioxidanty brambor jsou polyfenoly, L-askorbová kyselina, karotenoidy, tokoferoly, α -lipoová kyselina a selen. Zelenina, ovoce a zemědělské plodiny představují v lidské výživě významný zdroj antioxidantů jak při přímé konzumaci, tak i ve formě zeleninových a ovocných šťáv. Justesen a spol.⁵ odhadl denní příjem flavonoidů na 26 mg na osobu.

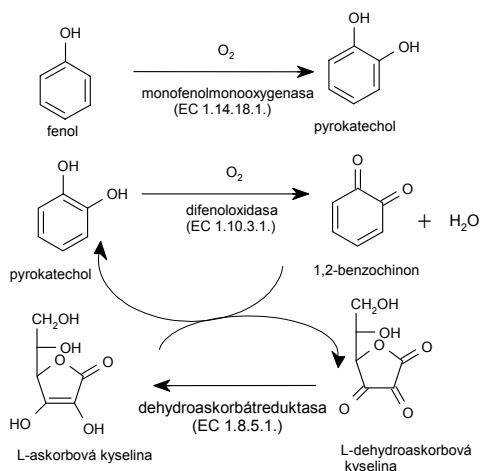
2. Brambory – významný zdroj antioxidantů v lidské výživě

Jedním z nejbohatších zdrojů antioxidantů v lidské výživě jsou bramborové hlízy (*Solanum tuberosum* L.)⁶. Hlízy brambor v lidské výživě vzhledem ke konzumovanému množství představují významný zdroj antioxidantů⁷, např. spolu s ovocem a zeleninou zajišťují denní příjem asi 64 mg polyfenolů na osobu v USA a zaujímají druhé místo v přísunu antioxidantů za rajčaty⁸. Z antioxidantů jsou nejbohatší na polyfenoly (1226–4405 mg kg⁻¹) a L-askorbovou kyselinu (170–990 mg kg⁻¹). Z ostatních látek typu antioxidantů jsou v bramborách zastoupeny karotenoidy (až 4 mg kg⁻¹), α -tokoferol (0,5–2,8 mg kg⁻¹) a v menší míře selen (0,01 mg kg⁻¹) a α -lipoová kyselina. Hlízy brambor obsahují sekundární metabolity – polyfenolické sloučeniny, které jsou substráty reakcí enzymového hnědnutí bramborových hlíz, objevujícího se při jejich loupání a krájení a které je umožněno působením polyfenoloxidas⁹. Aminokyselina L-tyrosin (1–2.10⁻³ mol l⁻¹) a chlorogenová kyselina (2–6.10⁻⁴ mol l⁻¹)¹⁰ představují dominantní složky bramborových hlíz^{11,12} obsahující v molekulách

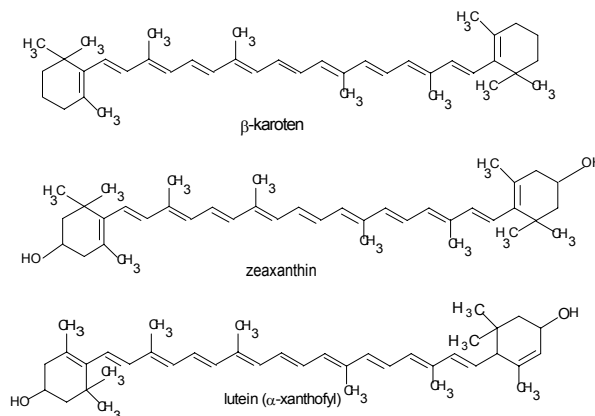


Obr. 1. Hlavní fenolické kyseliny brambor

fenolické hydroxyskupiny (obr. 1). Z těchto látek nejvíce zastoupenou sloučeninou je v bramborových hlízách aminokyselina L-tyrosin ($770\text{--}3900\text{ mg kg}^{-1}$) a dále to jsou kávová kyselina (280 mg kg^{-1}), skopolin (98 mg kg^{-1}), chlorogenová kyselina ($22\text{--}71\text{ mg kg}^{-1}$), ferulová kyselina (28 mg kg^{-1}) a kryptochlorogenová kyselina (11 mg kg^{-1}) – systematické názvy jsou uvedeny v tab. II. Kávová kyselina může být produktem hydrolyzy chlorogenové kyseliny; vykazuje silnou antioxidační aktivitu stejně jako i další hydroxyskořicové kyseliny obsažené v hlízách brambor¹³. Yamamoto a spol.¹⁴ našli kávovou kyselinu v jedlých částech brambor v množstvích $0,2\text{--}3,2\text{ mg kg}^{-1}$ a obsah celkových polyfenolů byl $422\text{--}834\text{ mg kg}^{-1}$. Slupky obsahovaly dvojnásobné množství těchto látek. Některé polyfenoly jsou zastoupeny pouze v menších množstvích, např. neochlorogenová kyselina (7 mg kg^{-1}), *p*-kumarová kyselina (4 mg kg^{-1}), sinapová kyselina (3 mg kg^{-1}) nebo kyselina isochlorogenová *a* (3 mg kg^{-1}). Pouze v malých množstvích byly nalezeny kyselina isochlorogenová *b*, skopoletin a *trans*-feruloylputrescin. Negrel a spol.¹⁵ zjistili výskyt amidů ferulové kyseliny (feruloyltyraminu a feruloylloktopaminu) ve vzorcích s vyšším obsahem suberinu v poškozéném peridermu bramborových hlíz. V celé rostlině brambor byly identifikovány glykosidy delphinidinu (3-*O*-rutinosid), kvercetin (3-*O*-glukosid nebo rutinosid), kemferol (3-*O*-(glukosylglukosid)-7-*O*-rhamnosid, 3-*O*-triglukosid-7-*O*-rhamnosid) a petunidinu (3-*O*-rutinosid). Z volných fenolických látek byl v bramborách identifikován (2*R*,3*S*)-katechin¹⁶. Laerke a spol.¹⁷ prokázali u odrůd Dalí a Oleva, že náchylnost k černým skvrnám u bramborových hlíz nemůže být dávana do relace s polyfenoloxidaseovou aktivitou a koncentrací fenolů v bramborových hlízách. Sekundární struktura polyfenoloxidasy brambor s červenou dužninou (molekulová hmotnost 40 kDa) je v poslední době intenzivně studována a Jang a Song¹⁸ prokázali, že obsahuje 35 % α -helixu, 30 % β -struktury a 35 % nepravidelné spirály.



Obr. 2. Antioxidační vztah mezi L-askorbovou kyselinou a polyfenoly



Obr. 3. Hlavní karotenoidy brambor

L-Askorbová kyselina (AK) je hlavním přírodním inhibítorem enzymového hnědnutí brambor¹⁹. Redukuje primární produkty oxidace, *o*-chinony zpět na *o*-difenyly a sama je kvantitativně oxidována na dehydroaskorbovou kyselinu (obr. 2). L-Askorbová kyselina také inhibuje bramborovou polyfenoloxidasu (PPO) přímo blokováním atomu mědi v aktivním centru enzymu. L-Askorbová kyselina obsažená v hlízách přitahuje pozornost vzhledem ke svému obsahu v bramborách a podílu konzumovaných brambor v lidské výživě jako důležitý zdroj vitamínu C. Brambory jsou velmi bohaté na L-askorbovou kyselinu²⁰ - obsahují $170\text{--}990\text{ mg kg}^{-1}$. Dokonce i ve vařených hlízách brambor zůstává průměrně 130 mg askorbové kyseliny v kilogramu a v bramborách pečených v mikrovlnné troubě 151 mg v kilogramu²¹. Obsah L-askorbové kyseliny je ovlivněn spoustou vnějších i vnitřních faktorů, jako jsou odrůda, rok pěstování, způsob pěstování, podmínky prostředí, stupeň zralosti hlíz a skladovací podmínky^{22–29}. Dipierro a de Leonardi³⁰ sledovali změny v aktivitě enzymů askorbát-glutathionového antioxidačního systému během skladování hlíz brambor po 40 týdnů při $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $9\text{ }^{\circ}\text{C}$ ve vztahu k peroxidaci lipidů. Obsah L-askorbové kyseliny v hlízách se během skladování snižoval při obou sledovaných teplotách. Obsah dehydroaskorbové kyseliny dosáhl maxima po asi 8 týdnech a byl významně vyšší u hlíz skladovaných při $3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Reduktasa volných askorbátových radikálů, dehydroaskorbátoreduktasa a glutathionreduktasa, enzymy zúčastněné v procesu regenerace L-askorbové kyseliny, nebyly ovlivněny teplotou a zůstaly zcela nezměněny v průběhu skladování. Je možné dojít k závěru, že askorbátový systém se podílí na zachycování volných radikálů odpovědných za peroxidaci lipidů přinejmenším při nízkých teplotách a v prvním období skladování.

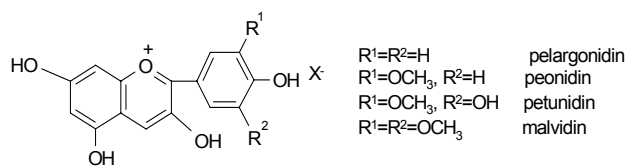
Také karotenoidy jsou účinnými antioxidy v antioxidačním systému^{31–33}. V bramborech jsou zastoupeny průměrně v množství 4 mg kg^{-1} . Mader, Vodičková^{34,35} stanovili celkový obsah karotenoidů v 35 českých odrůdách brambor v rozmezí $0,16$ až $6,36\text{ mg kg}^{-1}$ a prů-

měrnou hodnotu $1,94 \text{ mg kg}^{-1}$. van Dokkum a spol.³⁶ (1990) uvádějí průměrnou hodnotu $0,75 \text{ mg kg}^{-1}$. Podle Dukeho²⁰ nejvíce zastoupené jsou β -karoten (1 mg kg^{-1}) a jeho 5,6-monoepoxid (obr. 3). Avšak Ong a Tee³⁷ (1992) našli jako nejvíce zastoupený lutein ($0,13\text{--}0,60 \text{ mg kg}^{-1}$) a β -karoten ($0,03\text{--}0,40 \text{ mg kg}^{-1}$). Granado a spol.³⁸ stanovili u raných odrůd jako hlavní složky lutein ($0,12 \text{ mg kg}^{-1}$), zeaxanthin ($0,04 \text{ mg kg}^{-1}$) a β -karoten ($0,01 \text{ mg kg}^{-1}$). Také Heinonen a spol.³⁹ našli jako hlavní karotenoidy lutein a zeaxanthin ($0,13\text{--}0,60 \text{ mg kg}^{-1}$) a β -karoten ($0,032\text{--}0,077 \text{ mg kg}^{-1}$). Vyšší obsah těchto karotenoidů byl nalezen ve starších bramborách po skladování (v březnu) ve srovnání s novými hlízami (v srpnu), což může být vysvětleno změnami v obsahu vody. Ostatní karotenoidy byly obsaženy pouze v menším množství. Mezi nimi byly nalezeny α -karoten, 5,6-monoepoxid cis-antheraxanthinu, cis-neoxanthin, cis-violaxanthin, kryptoxanthin, 5,6-di-epoxid kryptoxanthinu a lykopen^{40,41}. Müller⁴² našel celkový obsah karotenoidů v hlízách brambor $4,5 \text{ mg kg}^{-1}$ – toto množství bylo tvořeno violaxanthinem ($1,8 \text{ mg kg}^{-1}$), antheraxanthinem (5,6-epoxidem zeaxanthinu, $1,3 \text{ mg kg}^{-1}$), luteinem ($1,0 \text{ mg kg}^{-1}$), zeaxanthinem ($0,16 \text{ mg kg}^{-1}$), neoxanthinem ($0,14 \text{ mg kg}^{-1}$), β -karotenem ($0,05 \text{ mg kg}^{-1}$) a β -kryptoxanthinem ($0,03 \text{ mg kg}^{-1}$). Jak zjistili Mader a Vodíčková^{33,34} (1996, 1998), celkový obsah karotenoidů je vysoce závislý na dané odrůdě (nejvyšší obsahy byly nalezeny u odrůd Agria, Lipta, Albina, Svatava, Zlata, Korela, Tara, Nikola, Lukava a Karin). Obsah karotenoidů je silně ovlivněn ročníkem, přičemž polorané odrůdy jsou více závislé na klimatických podmínkách ve srovnání s ranými odrůdami. Jako dominantní identifikovali lutein a zeaxanthin (42–66 % plochy píku), v menším množství byl zastoupen β -karoten (1,1–3 %).

Hlízy brambor jsou také bohaté na α -tokoferol ($0,5\text{--}2,8 \text{ mg kg}^{-1}$)⁴³ a obsahují i dostatečné množství selenu ($0,01 \text{ mg kg}^{-1}$). Djujic a spol.⁴⁴ stanovili průměrný denní příjem selenu jako $29,72 \text{ mg}$ denně a příspěvek zeleniny a brambor z celkového množství byl $6,5 \%$. Dalším antioxidantem v bramborových hlízách typu vitamínu je α -lipoová kyselina, známá jako růstový faktor brambor. Uvnitř buněk je α -lipoová kyselina snadno redukována na dihydrolipovou kyselinu, která likviduje škodlivé superoxidové, hydroperoxylové a hydroxylové radikály⁴⁵.

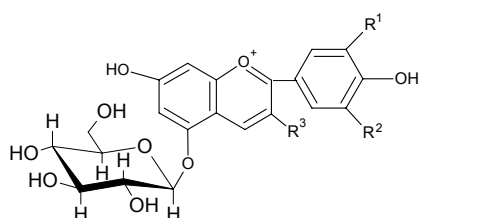
3. Anthokyanová barviva v barevných hlízách brambor

Anthokyanany jak v čerstvém, tak i zpracovaném ovoci a zelenině zlepšují jejich celkový vzhled a také přispívají ke zdraví konzumentů⁴⁶. Důležitou vlastností těchto barviv je, že v dietě představují účinné antioxidanty^{47,48}, jejichž denní příjem je odhadován na 180 mg na osobu⁴⁹. Jsou hlavně obsaženy v červeně a modře zbarvených odrůdách brambor ve slupkách a dužnině bramborových hlíz a chrání lidský organismus proti oxidantům, volným radi-

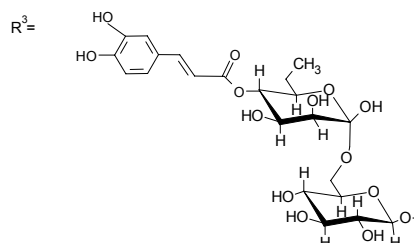


Obr. 4. Anthokyanové aglykony brambor

kálům a vyšším hladinám LDL cholesterolu⁵⁰. Přírodní variace kultivovaných brambor zahrnuje typy, které jsou červeně a modře zbarveny díky přítomnosti anthokyanů (struktura aglykonů je uvedena na obr. 4) ve slupce nebo dužnině⁴⁷. Červeně zbarvené bramborové hlízy (slupky a dužnina) obsahují glykosidy pelargonidinu, např. 3-*O*-(*p*-kumaroylrutinosid)-5-*O*-glukosid ($200\text{--}2000 \text{ mg kg}^{-1}$ čerstvé hmoty), v menším množství glykosidy peonidinu, např. 3-*O*-(*p*-kumaroylrutinosid)-5-*O*-glukosid ($20\text{--}200 \text{ mg kg}^{-1}$ čerstvé hmoty)⁵¹. Modře zbarvené hlízy obsahují podobné koncentrace 3-*O*-(*p*-kumaroylrutinosid)-5-*O*-glukosidu petunidinu a mnohem vyšší množství 3-*O*-(*p*-kumaroylrutinosid)-5-*O*-glukosidu malvidinu (2000 až 5000 mg kg^{-1} čerstvé hmoty). Brown a spol.⁴⁷ stanovili celkový obsah anthokyanů v rozmezí $69\text{--}350 \text{ mg}$ v kilogramu čerstvé hmoty u brambor s červenou dužninou a $55\text{--}171 \text{ mg}$ u modře zbarvených klonů. Acylovaná barviva tvoří více než 98% celkového obsahu anthokyanů brambor. Jednotlivé glykosidy se liší typem kyseliny, která se zúčastní acylace, např. kávová kyselina je součástí 3-*O*-{6-*O*-[4-*O*-(3,4-dihydroxycinnamoyl)- α -L-rhamnopyranosyl]- β -glukopyranosid}-5-*O*- β -glukopyranosidu peonidinu (10% obsahu anthokyanů) a petunidinu (6%). Naito a spol.⁵² zjistili, že acylované glykosidy pelargonidinu jsou



R^1, R^2, R - viz Tab. I



Obr. 5. Struktura anthokyanových glykosidů červeně a modře zbarvených brambor

Tabulka I
Anthokyanové glykosidy červeně až modře zbarvených brambor

R ¹	R ²	R	Anthokyanový glykosid
H	H	H	3- <i>O</i> -{6- <i>O</i> -[4- <i>O</i> -((<i>E</i>)- <i>p</i> -kumaroyl)- α -L-rhamnopyranosyl]}- β -D-glukopyranosid}-5- <i>O</i> - β -D-glukopyranosid pelargonidinu peonarin
OCH ₃	H	H	3- <i>O</i> -{6- <i>O</i> -[4- <i>O</i> -((<i>E</i>)- <i>p</i> -kumaroyl)- α -L-rhamnopyranosyl]}- β -D-glukopyranosid}-5- <i>O</i> - β -D-glukopyranosid peonidinu
OCH ₃	H	OH	3- <i>O</i> -{6- <i>O</i> -[4- <i>O</i> -((<i>E</i>)-3,4-dihydroxycinnamoyl)- α -L-rhamnopyranosyl]}- β -D-glukopyranosid}-5- <i>O</i> - β -D-glukopyranosid peonidinu petanin
OCH ₃	OH	H	3- <i>O</i> -{6- <i>O</i> -[4- <i>O</i> -((<i>E</i>)- <i>p</i> -kumaroyl)- α -L-rhamnopyranosyl]}- β -D-glukopyranosid}-5- <i>O</i> - β -D-glukopyranosid petunidinu
OCH ₃	OH	OH	3- <i>O</i> -{6- <i>O</i> -[4- <i>O</i> -((<i>E</i>)-3,4-dihydroxycinnamoyl)- α -L-rhamnopyranosyl]}- β -D-glukopyranosid}-5- <i>O</i> - β -D-glukopyranosid petunidinu
OCH ₃	OH	OCH ₃	3- <i>O</i> -{6- <i>O</i> -[4- <i>O</i> -((<i>E</i>)-feruloyl)- α -L-rhamnopyranosyl]}- β -D-glukopyranosid}-5- <i>O</i> - β -D-glukopyranosid petunidinu
OCH ₃	OCH ₃	H	3- <i>O</i> -{6- <i>O</i> -[4- <i>O</i> -((<i>E</i>)- <i>p</i> -kumaroyl)- α -L-rhamnopyranosyl]}- β -D-glukopyranosid}-5- <i>O</i> - β -D-glukopyranosid malvidinu
OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	3- <i>O</i> -{6- <i>O</i> -[4- <i>O</i> -((<i>E</i>)-feruloyl)- α -L-rhamnopyranosyl]}- β -D-glukopyranosid}-5- <i>O</i> - β -D-glukopyranosid malvidinu

charakteristické pro červené brambory. Hlavní barvivo bylo identifikováno jako 3-*O*-{6-*O*-[4-*O*-((*E*)-*p*-kumaroyl)- α -L-rhamnopyranosyl]}- β -D-glukopyranosid}-5-*O*- β -D-glukopyranosid pelargonidinu a jako minoritní barvivo 3-*O*-{6-*O*-[4-*O*-((*E*)-feruloyl)- α -L-rhamnopyranosyl]}- β -D-glukopyranosid}-5-*O*- β -D-glukopyranosid pelargonidinu. V ostatních glykosidech je vázáná *p*-kumarová kyselina, např. v peonarinu (25 %) a petaninu (37 %). Stejně anthokyanu, avšak v jiných poměrech, jsou obsaženy v hlízách brambor s modrou dužninou. Další acylující kyselinou je ferulová kyselina, např. v modré odrůdě Congo jsou přítomny 3-*O*-[6-*O*-[4-*O*-feruloyl)- α -L-rhamnopyranosyl]}- β -D-glukopyranosid}-5-*O*- β -D-glukopyranosid petunidinu a malvidinu. Obsah anthokyanů je odhadován na 20–400 mg kg⁻¹ čerstvé hmotnosti hlíz⁵³. V červených odrůdách 3-*O*-rutinosid-5-*O*-glukosid pelargonidinu acylovaný *p*-kumarovou kyselinou představuje asi 70 % z celkového obsahu anthokyanů. Červeně zbarvené brambory obsahují převážně 80 % acylovaných glykosidů pelargonidinu, zatímco brambory s modrou dužninou obsahují kromě těchto glykosidů navíc acylované glykosidy petunidinu v poměru 2:1 (cit.⁴⁸). Struktury hlavních anthokyanových glykosidů jsou uvedeny v obr. 5 a tab. I. Glykosidy peonidinu, petunidinu a malvidinu jsou hlavní anthokyanové glykosidy, které přispívají k antioxidačním vlastnostem hlíz brambor.

4. Antioxidační aktivita anthokyanů brambor

Antioxidační aktivita anthokyanů je kromě jiných vlastností určována počtem volných fenolických hydro-

xyskupin v molekule, takže petunidin má vyšší antioxidační účinek ve srovnání s malvidinem, peonidinem či pelargonidinem. Celková antioxidační aktivita brambor způsobená polyfenoly je určena jak obsahem anthokyanů, tak i obsahem fenolických kyselin, zvláště isomery chlorogenových kyselin^{54,55}. Acylace anthokyanů brambor skořicovými kyselinami posunuje jejich zbarvení do modrého odstínu a z velké části zvyšuje jejich celkovou antioxidační účinnost. Naopak glykosylace v poloze 5 snižuje antioxidační aktivitu a rovněž tak i substituce v poloze 3. Antioxidační vlastnosti přírodních extraktů jsou mnohem vyšší ve srovnání s čistými individuálními látkami; tento jev potvrzuje jejich synergické působení^{56,57} ve směsích anthokyanů obsažených v bramborových hlízách. Zbarvené brambory vykazují dvakrát až třikrát vyšší antioxidační potenciál ve srovnání s bramborami s bílou dužninou⁴⁸. Vzhledem k této skutečnosti brambory s vysokým obsahem anthokyanů mohou být řazeny k zeleninám vykazujícím vysokou antioxidační účinnost, jako je např. kapusta nebo brokolice. Absorpce kyslíkových radikálů a redukce železitých kationtů v hlízách brambor s červeně a modře zbarvenou dužninou je několikanásobně vyšší ve srovnání s bílými hlízami brambor. Brown a spol.⁴⁸ potvrdili měřením antioxidační aktivity (metodami ORAC a FRAP – viz seznam zkratk), že brambory s červenou nebo modrou dužninou měly výrazně vyšší antioxidační aktivitu než brambory s bílou nebo žlutě či oranžově zbarvenou dužninou, avšak bílé brambory rovněž vykazují antioxidační aktivitu v rozmezí 930–1380 troloxových ekvivalentů na kg čerstvé hmoty. Brambory se tak nabízejí jako podstatný zdroj antioxidantů, které působí blahodárným způsobem

Tabulka II

Triviální a systematické názvy vybraných látek obsažených v bramborách

Triviální název	Systematický název
Ferulová kyselina	3-(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)propenová kyselina
Chinová kyselina	1,3,4,5-tetrahydroxycyklohexan-1-karboxylová kyselina
Chlorogenová kyselina	3 <i>O</i> -(3,4-dihydroxycinnamoyl)chinová kyselina, tj. 3-[(3,4-dihydroxycinnamoyl)oxy]-1,4,5-trihydroxycyklohexan-1-karboxylová kyselina
Isochlorogenová kyselina <i>a</i>	3 <i>O</i> ,4 <i>O</i> -bis(3,4-dihydroxycinnamoyl)chinová kyselina, tj. 3,4-bis[(3,4-dihydroxycinnamoyl)oxy]-1,5-dihydroxycyklohexan-1-karboxylová kyselina
Isochlorogenová kyselina <i>b</i>	3 <i>O</i> ,5 <i>O</i> -bis(3,4-dihydroxycinnamoyl)chinová kyselina, tj. 3,5-bis[(3,4-dihydroxycinnamoyl)oxy]-1,4-dihydroxycyklohexan-1-karboxylová kyselina
Káвовá kyselina	3-(3,4-dihydroxyfenyl)propenová kyselina
Krytochlorogenová kyselina	4 <i>O</i> -(3,4-dihydroxycinnamoyl)chinová kyselina, tj. 4-[(3,4-dihydroxycinnamoyl)oxy]-1,3,5-trihydroxycyklohexan-1-karboxylová kyselina
Neochlorogenová kyselina	5 <i>O</i> -(3,4-dihydroxycinnamoyl)chinová kyselina, tj. 5-[(3,4-dihydroxycinnamoyl)oxy]-1,4,5-trihydroxycyklohexan-1-karboxylová kyselina
Oktopamin	4-(2-amino-1-hydroxyethyl)fenol
<i>p</i> -Kumarová kyselina	3-(4-hydroxyfenyl)propenová kyselina
Sinapová kyselina	3-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyfenyl)propenová kyselina
Skopoletin	7-hydroxy-6-methoxy-2 <i>H</i> -chromen-2-on
Skopolin	7-(β-D-glukopyranosyloxy)-6-methoxy-2 <i>H</i> -chromen-2-on
Skořicová kyselina	3-fenylpropenová kyselina
Tyramin	4-(2-aminoethyl)fenol

na kardiovaskulární choroby, zabraňují určitým typům rakoviny a zpomalují degeneraci sítnice⁴⁶. Dieta bohatá na anthokyany a ostatní příbuzné fenolické látky je spojována se sníženým výskytem a závažností některých druhů rakoviny a srdečních onemocnění⁵⁸. Jak prokázali Harada a spol.⁵⁹, acylace anthokyanů hydroxyskořicovými kyselinami je zvláště příznivá pro absorpci anthokyanů a využití jejich antioxidačních účinků.

5. Význam antioxidantů brambor

Bramborové hlízy zpracované v různých formách jako jsou smažené hranolky, lupinky, či ve formě bramborové kaše nebo pečených brambor, jsou velmi bohaté na vlákninu snižující obsah cholesterolu a draslík, který udržuje elektrolytickou rovnováhu stejně jako normální funkci srdce a krevní tlak. Jsou také bohaté obsahem antioxidantů, zvláště polyfenolů a L-askorbové kyseliny. Tyto látky jsou převážně rozpustné ve vodě. Na druhé straně hlízy brambor obsahují také lipofilní antioxidanty jako jsou karotenoidy, tokoferoly a α-lipoová kyselina. Antioxidanty jsou účinnější, jsou-li použity v kombinaci díky jejich synergickému účinku, tj. vzájemnému zvyšování účinku. Polyfenolické sloučeniny chrání vitamin C a β-karoten, které na druhé straně mohou pomáhat funkcím vitaminu E (cit.³⁸). Kromě L-tyrosinu jsou v bramborách nejvíce zastoupeny hydroxyskořicové kyseliny

(chlorogenová, neochlorogenová, kávová, ferulová), které představují silné antioxidanty a mohou zastavit růst některých rakovinných buněk⁶⁰. Flavonoidy jsou schopné zachycovat a neutralizovat přebytečné volné radikály v mnohých tkáních a působit synergicky s antioxidačními vitaminy C a E (cit.⁶¹). Některé flavonoidy jsou schopné vázat kovové ionty a zabránit jejich katalytickému působení v těle a jsou schopné regulovat aktivitu antioxidačních enzymů, superoxididismutasy (SOD) a glutathionperoxidasy (GPX). Zvyšují účinky L-askorbové kyseliny. Anthokyaniny působí jako antioxidanty na lidský lipoprotein o nízké hustotě a na systémy lecithin-liposom⁶². Také L-askorbová kyselina může mít za určitých okolností antioxidační účinky. Může působit jako lapač kyslíku, jako donor vodíku pro fenolické sloučeniny a jako synergická látka pro některé antioxidanty. L-Askorbová kyselina redukuje některé ionty kovů a umožňuje jim působit účinněji jako prooxidanty. β-Karoten, jeden z hlavních karotenů bramborových hlíz, se vyznačuje jedním z nejvyšších antioxidačních účinků karotenoidů. α-Lipoová kyselina regeneruje jiné antioxidanty jako jsou vitaminy C a E a glutathion a prodlužuje jejich existenci v organismu. Dihydroliipoová kyselina recykluje vitamin E díky synergické reakci s L-askorbovou kyselinou. β-Karoten není aktivní při recyklaci vitaminu E, ale má schopnost chránit se sám proti oxidační destrukci⁶³. Karotenoidy jsou specifické pro ochranu určité tkáně⁶¹. Celkově jsou ochranné účinky vyšší, jsou-li ve složené směsi obsaženy všechny karotenoidy.

Karoteny také zvyšují imunitní odpověď a chrání buňky pokožky proti UV záření. Selen působí společně s vitamínem E v buněčném antioxidačním obranném systému tak, že zastavuje reakce volných radikálů, které mohou poškodit buněčné struktury.

6. Šlechtění nových odrůd brambor s červeně a modře zbarvenými hlízami

Vzhledem ke skutečnosti, že antioxidační kapacita červeně nebo modře zbarvených brambor je 2–3× vyšší ve srovnání s bramborami s bílou/žlutou dužninou, mohly by tyto brambory zvýšit příjem antioxidantů v lidské výživě. To je také důvodem, proč se úsilí šlechtitelů zaměřuje na šlechtění těchto fenotypů brambor, které mohou zahrnovat následující varianty: modrá slupka a dužnina, modrá slupka s částečně modrou (mramorovanou) dužninou, červená slupka s červenou dužninou a červená slupka s částečně zbarvenou (mramorovanou) dužninou. Syntéza anthokyanových barviv v bramborách je založena na aktivitě dihydroflavonol-4-reduktasy, která katalyzuje redukci dihydrokemferolu na leukopelargonidin. Bramborový R lokus, tj. místo speciálního genu R na chromosomu, je základním kódujícím faktorem pro dihydroflavonol-4-reduktasu, potřebnou při vzniku červených barviv brambor založených na pelargonidinu. Tento R-lokus je přítomný ve všech červeně zbarvených hlízách⁶⁴, zatímco u hlíz s bílou dužninou chybí. R-lokus byl vyšlechtěn během domestikace brambor^{65,66}. Podobně jako je R-lokus nezbytný pro tvorbu červených anthokyanů na bázi pelargonidinu, byly charakterizovány i P-lokus, nezbytný pro tvorbu modrých anthokyanů na bázi delphinidinu a I-lokus nezbytný pro tkáňovou specifickou expresi ve slupkách hlíz⁶⁷. Zvláště P-lokus je nezbytný pro kódování flavonoid-3',5'-hydroxylasy s následující tvorbou modrých anthokyanů, jak prokázali Jung a spol.⁶⁸ u odrůdy brambor s červenou slupkou Désirée. V současné době bylo vyšlechtěno mnoho zbarvených odrůd, např. Norland, Red Norland, Dark Red Norland, Congo, Blaue Hindelbank, All Blue, Red Pearl, Purple Peruvian, Russet Norkotah, Cranberry Red a další⁶⁹. Klony s červeně a modře zbarvenou dužninou mají často stejně zbarvenou slupku a tvorba těchto barviv je pravděpodobně řízena více geny^{47,70}. Procento dědičnosti potomků s červeně zbarvenou dužninou je u kříženců červená × červená 14,5 % a 4,1 % u kříženců červená × bílá. Expresí DNA kódující dihydroflavonol-4-reduktasu může zvýšit tvorbu pelargonidinu až 4×. Během vývoje barevných hlíz zůstává obsah anthokyanů více méně konstantní, pouze u méně zbarvených odrůd se zvyšuje do určitého definovaného maxima. Během vývoje těchto hlíz byly pozorovány změny v obsahu anthokyanů a zbarvení hlíz Hungem a spol.⁵⁰ nebo Fossenem a Andersenem⁷¹. Lze tedy konstatovat, že během vývoje hlíz jsou syntetizovány anthokyanany a dělení buněk a nárůst přispívají potom k poklesu zbarvení a koncentrace anthokyanů.

7. Role anthokyanů v bramborách a jejich potravinářské a nepotravinářské použití

Anthokyanany obsažené v červených a modrých bramborách mají antioxidační vlastnosti, ale mohou také blokovat bramborovou plíseň díky jejich fungicidním vlastnostem. Červené a modré odrůdy brambor mají trvalou rezistenci, která zabraňuje proniknutí plísně do podzemních částí brambor. Také několik dalších abiotických stresových faktorů (poranění, působení ultrafialového záření) a účinek methyl-jasmonátu nebo ethylenu byly sledovány vzhledem k jejich schopnosti indukovat akumulaci fenolických sloučenin a antioxidační kapacity v bramborách s červenou dužninou. Poranění mělo za následek zvýšení obsahu celkových fenolů o 60 % a současně 85% zvýšení antioxidační aktivity⁷². Lukaszewicz a spol.⁷³ na příkladu hlíz transgenních brambor se zvýšeným obsahem flavonoidů a anthokyanů prokázali zlepšenou antioxidační aktivitu; stejná závislost byla prokázána i pro chlorogenovou kyselinu⁷⁴. Reyes a spol.⁷⁵ potvrdili, že během zrání hlíz červených a modrých brambor roste hmotnost a výnos hlíz, avšak obsah anthokyanů a dalších fenolických látek se snižuje. Delší dny a nižší teploty byly pro tvorbu anthokyanů a fenolických látek příznivé (jejich obsah za těchto podmínek byl 1,5–2,5× vyšší). Hlavním cílem šlechtitelů a producentů při šlechtění a výběru odrůd s vysokým obsahem anthokyanů a při stanovení vhodných podmínek růstu pro zvýšení výtěžků přírodního barviva – anthokyanů je získat červené a modré brambory s vysokým obsahem anthokyanů a vysokou antioxidační aktivitou pro potravinářský průmysl a použít tyto brambory jako potravinářské přísady⁴⁷. Některé tyto speciální brambory byly hodnoceny velmi pozitivně, např. odrůdy s červenou dužninou All Blue a Mc Intosh Black nebo odrůda Alaska Sweetheart⁷⁶. V poslední době jsou brambory s červeně a modře zbarvenou dužninou intenzivně studovány jako zdroj anthokyanových přírodních barviv pro potravinářské i nepotravinářské účely⁷⁷. Singh a Rajini⁷⁸ prokázali značnou antioxidační účinnost prášku vyrobeného ze slupek brambor, stejně tak i schopnost potlačit aktivitu superoxidů. Vzhledem k tomu, že bramborové slupky jsou vyhazovány jako odpad a nejsou efektivně využívány, naznačují tyto výsledky, že by mohly být efektivně využity jako složka funkčních potravin. Ur-Rehman a spol.⁷⁹ doporučují přidávat extrakt ze slupek brambor do olejů, tuků a ostatních potravinářských produktů jako přírodní antioxidant k potlačení oxidace lipidů. Acylace anthokyanových glykosidů brambor hydroxyskořicovými kyselinami přispívá k jejich značné stabilitě.

8. Závěr

Odrůdy s červenou až modrou dužninou se pěstují v Americe, v Austrálii i v některých evropských zemích, avšak většinou ve velmi malém rozsahu jako delikatesa

pro zpestření trhu. V poslední době je jim však věnována větší pozornost (např. v Kanadě, USA i v některých evropských zemích), a to právě ze zdravotních důvodů. Jsou to odrůdy s rozdílnými varnými vlastnostmi, a proto je lze využít na přípravu salátů, jako přílohu i na smažení hranolků nebo na bramborové kaše. U nás jsou tyto odrůdy zatím málo známy a v některých hypermarketech jsou jako novinka prodávány za vysoké ceny. Nelze předpokládat, že by tyto odrůdy s barevnou dužninou mohly konkurovat tradičním odrůdám. V blízké budoucnosti by však mohly zpestřit i náš trh, neboť po vstupu do EU se u nás již mohou pěstovat odrůdy registrované v ostatních zemích EU. Ve státních odrůdových zkouškách ÚKZÚZ je nyní zkoušena i odrůda tohoto typu (Valfi). Nejdůležitějšími faktory, které jsou v současné době studovány, jsou šlechtění nových odrůd a kultivarů s vysokým obsahem anthokyanů, vliv hnojení a regionu pěstování, skladovacích podmínek a technologie zpracování a stabilita produktů. Kosieradzka a spol.⁸⁰ zjistili, že hlízy transgenických brambor obsahují vyšší koncentrace anthokyanů vzhledem k expresi chalconsyntetasy, chalconisomerasy a dihydroflavonoldehydrogenasy a docházejí k závěru, že tyto hlízy s vyšším obsahem anthokyanů mohou mít vyšší nutriční hodnotu.

S e z n a m z k r a t e k

I, P, R lokus – místo speciálních genů I, P, R na chromosomu

FRAP metoda (ferric reducing ability of plasma) – metoda stanovení schopnosti plazmy redukovat (tripirydyltriazin) železitý ion na železnatý

LDL cholesterol (low density lipoprotein cholesterol) – cholesterol s lipoproteinem o nízké molekulové hmotnosti, který je škodlivý

ORAC metoda (oxygen radical absorbance capacity assay) – metoda stanovení absorpční kapacity kyslíkových radikálů

troloxový ekvivalent – ekvivalent antioxidační kapacity 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylové kyseliny

ÚKZÚZ – Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský

Tato studie je součástí řešení výzkumného záměru MŠM 6046070901 a grantu NAZV 1646058.

LITERATURA

- Bors W., Saran M.: *Free Radical Res. Commun.* 2, 289 (1987).
- Good D.: *Am. J. Med.* 12 (1994).
- Lachman J., Orsák M., Pivec V.: *Zahradnictví* 27, 65 (2000).
- Lachman J., Hejtmánková A., Orsák M., Pivec V.: *Proc. Sustain Life – Secure Survival II*, str. 75 (2004).
- Justesen U., Knuthsen P., Leth T.: *Cancer Lett.* 114, 167 (1997).
- Lachman J., Hamouz K., Orsák M., Pivec V.: *Rostl. Výroba* 46, 231 (2000).
- Al-Saikhan M. S., Howard L. R., Miller J. C. Jr.: *J. Food Sci.* 60, 341 (1995).
- Vinson J. A.: *U.S. per capita polyphenol consumption from common fruits, vegetables & beverages*. Am. Chem. Soc. Annual Meeting, Orlando, August 1996.
- Jang J., Song K. B.: *J. Food Sci.* 69, C648 (2004).
- Dao L., Friedman M.: *J. Agric. Food Chem.* 40, 2152 (1992).
- Matheis G.: *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* 12, 86 (1989).
- Leja M.: *Acta Physiol. Plant.* 11, 201 (1989).
- Chen J. H., Ho C. T.: *J. Agric. Food Chem.* 45, 2374 (1997).
- Yamamoto I., Takano K., Sato H., Kamoi I., Miamoto T.: *J. Agric. Sci.* 41, 239 (1997).
- Negrel J., Pollet B., Lapiere C.: *Phytochemistry* 43, 1195 (1996).
- Mendez C. D. V., Delgado M. A. R., Rodriguez E. M. R., Romero C. D.: *J. Agric. Food Chem.* 52, 1323 (2004).
- Lærke P. E., Christiansen J., Veierskov B.: *Postharvest Biol. Technol.* 26, 99 (2001).
- Jang J., Song K. B.: *J. Food Sci.* 69, C648 (2004).
- Almeida M. E. M., Nogueira J. N.: *Plant Foods Hum. Nutr. (Dordrecht, Neth.)* 47, 245 (1995).
- Duke J. A.: *Handbook of Phytochemical Constituents of Grass Herbs and Other Economic Plants*. Boca Raton, FL. CRC Press 1992a.
- USDA Nutrient Database for Standard Reference Release 12 (1998).
- Mapson L. W., Swain T., Tomalin A. W.: *J. Sci. Food Agric.* 14, 673 (1963).
- Brudzynski A., Zawidzka-Okoniewska E.: *Zesz. Nauk. Szk. Gl. Gospod. Wiejsk. – Akad. Roln. Warszawie, Technol. Rolno-Spozyw.* 13, 91 (1979).
- Mondy N. I., Koch R. L., Chandra S.: *J. Agric. Food Chem.* 27, 418 (1979).
- Takebe M., Yoneyama T.: *Nippon Dojo Hiriyogaku Zasshi* 63, 447 (1992).
- Mondy N. I., Munshi C. B.: *J. Agric. Food Chem.* 41, 1868 (1993).
- Cieslik E.: *Food Chem.* 49, 233 (1994).
- Štorková J., Prugar J.: *Výživa a potraviny* 52, 2 (1997).
- Hamouz K., Lachman J., Vokál B., Pivec V.: *Rostl. Výroba* 45, 293 (1999).
- Dipierro S., de Leonardis S.: *J. Exp. Bot.* 48, 779 (1997).
- Canfield M.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 691, 192 (1993).
- Järvinen R.: *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 65, 24 (1995).
- Mayne S.T.: *FASEB J.* 10, 690 (1996).
- Mader P., Vodičková H.: *Karotenoidy v hlízách brambor vybraných odrůd českého sortimentu. Závěrečná zpráva projektu GAČR, 509/94/0736*, Praha 1996.
- Mader P.: *Karotenoidy v hlízách brambor vybraných odrůd českého sortimentu. Souhrn referátů XXIX. symposia o nových směrech výroby a hodnocení*

- potravín. Skalský dvůr*, 8 (1998).
36. Van Dokkum W., De Vos R. H., Schrijver J.: *J. Agric. Food Chem.* 38, 211 (1990).
 37. Ong A. S. H., Tee E. S.: *Methods Enzymol.* 213, 142 (1992).
 38. Granado F., Olmedilla B., Blanco I., Rojas-Hidalgo E.: *J. Agric. Food Chem.* 40, 2135 (1992).
 39. Heinonen M. I., Haila K., Lampi A. M., Piironen V.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74, 1047 (1997).
 40. Bergthaller W., Tegge G., Hoffmann W.: *Effect of Storage Temperature on Color Changes and Content of Carotenoids of Dehydrated Diced Potatoes*. V knize: *Engineering for Potatoes*, (Cargill B. F., ed.) str. 456. ASAE, St. Joseph (1986).
 41. Duke J. A.: *Handbook of Biologically Active Phytochemicals and Their Activities*. FL. CRC Press, Boca Raton 1992.
 42. Müller H.: *Z. Lebensm. – Unters. Forsch. A* 204, 88 (1997).
 43. Packer L., Witt E. H., Tritschler H. J.: *Free Radical Biol. Med.* 19, 227 (1995).
 44. Djuić I., Djuić B., Trajković L.: *Naucni Skupovi – Srp. Akad. Nauka Umjet., Od. Prir. – Mat. Nauka* 6, 81 (1995).
 45. Packer L., Witt E. H., Tritschler H. J.: *Free Radical Biol. Med.* 19, 227 (1995).
 46. Stintzing F.C., Carle R.: *Trends Food Sci. Technol.* 15, 19 (2004).
 47. Brown C. R., Wrolstadt R., Durst R., Yang C. P., Clevidence B.: *Am. J. Potato Res.* 80, 241 (2003).
 48. Brown C. R.: *Nutrient Status of Potato: Assessment of Future Trends*. Proc. *Washington State Potato Conf.*, 11 (2004).
 49. Galvano F., La Fauci L., Lazzarino G., Fogliano V., Ritieni A., Ciappellano S., Battistini N.C., Tavazzi B., Galvano G.: *J. Nutr. Biochem.* 15, 2 (2004).
 50. Hung Chen-Yi, Murray J. R., Ohmann S. M., Tong C. B. S.: *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 122, 20 (1997).
 51. Lewis Ch. E., Walker J. R. L., Lancaster J. E., Sutton K. H.: *J. Sci. Food Agric.* 77, 45 (1998).
 52. Naito K., Umemura Y., Mori M., Sumida T., Okada T., Takamatsu N., Okawa Y., Hayashi K., Saito N., Honda T.: *Phytochemistry* 47, 109 (1998).
 53. Rodriguez-Saona L. E., Giusti M. M., Wrolstad R. E.: *J. Food Sci.* 63, 458 (1998).
 54. Lachman J., Hamouz K., Orsák M., Pivec V.: *Rostl. Výroba* 46, 231 (2000).
 55. Hamouz K., Lachman J., Vokál B., Pivec V.: *Rostl. Výroba* 45, 293 (1999).
 56. De Souza R. F. V., De Giovanni W. F.: *Redox Rep.* 9, 97 (2004).
 57. Garcia-Alonso M., de Pascual-Teresa S., Santos-Buelga C., Rivas-Gonzalo J. C.: *Food Chem.* 84, 13 (2004).
 58. Hertog M. G. L., Feskens E., Hollman P., Katan M., Kromhout D.: *Lancet* 342, 1007 (1993).
 59. Harada K., Kano M., Takayanagi T.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 68, 1500 (2004).
 60. Cutler R. G.: *Am. J. Clin. Nutr.* 53, 373S (1991).
 61. Satué M. T., Heinonen M. I., Frankel E. N.: *J. Agric. Food Chem.* 45, 3362 (1997).
 62. Kagan V. E., Serbinova E. A., Forte T., Scita G., Packer L.: *J. Lipid Res.* 33, 385 (1993).
 63. Ziegler R.: *Am. J. Clin. Nutr.* 53, 251S (1991).
 64. De Jong W. S., De Jong D. M., De Jong H., Kalazich J., Bodis M.: *Theor. Appl. Genet.* 107, 1375 (2003).
 65. De Jong H.: *Am. Potato J.* 68, 585 (1991).
 66. De Jong H., Burns V. J.: *Am. Potato J.* 70, 267 (1993).
 67. De Jong W. S., Eannetta N. T., De Jong D. M.: *Theor. Appl. Genet.* 108, 423 (2004).
 68. Jung Ch. A. S., Griffiths H. M., De Jong D. M., Cheby S., Bodis M., De Jong W. S.: *Theor. Appl. Genet.* 110, 269 (2005).
 69. Groza H. I., Bowen B. D., Kichefski D., Peloquin S. J., Jiang J.: *Am. J. Potato Res.* 81, 209 (2004).
 70. Jong W. S., De Jong D. M., Bodis M.: *Theor. Appl. Genet.* 107, 1384 (2003).
 71. Fossen T., Andersen O. M.: *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 75, 360 (2000).
 72. Reyes L. F., Cisneros-Zevallos L.: *J. Agric. Food Chem.* 51, 5296 (2003).
 73. Lukaszewicz M., Matysiak-Kata I., Skala J., Fecka I., Cisowski W., Szopa J.: *J. Agric. Food Chem.* 52, 1526 (2004).
 74. Niggeweg R., Michael A. J., Martin C.: *Nat. Biotechnol.* 22, 746 (2004).
 75. Reyes L. F., Miller J. C., Cisneros-Zevallos L.: *Am. J. Potato Res.* 81, 187 (2004).
 76. Sorensen E. J., Mikitzel L. J.: *An Evaluation of the Culinary Quality of Specialty Potatoes*. Proc. *1993 Washington State Potato Conf. & Trade Fair*, 7 (1993).
 77. Vogel R., Schüler K., Flamme W., Jansen F.G., Junghans H., Christiansen Ch., Möhring H., Jacobs R.: *Investigations of extraction of pigments from potatoes (Solanum tuberosum genpool) and testing of economic utilizability in them contained pigments for non-food utilization*. Final Report, FNR FKZ, 98NR113, Landesumweltamt Brandenburg 2004.
 78. Singh N., Rajini P. S.: *Food Chem.* 85, 611 (2004).
 79. Ur-Rehman Z., Farzana H., Shah W. H.: *Food Chem.* 85, 215 (2004).
 80. Kosieradzka I., Borucki W., Matysiak-Kata I, Szopa J., Sawosz E.: *J. Anim. Feed Sci.* 13, 87 (2004).

J. Lachman^a, K. Hamouz^b, and M. Orsák^a
 (^aDepartment of Chemistry, ^bDepartment of Plant Production, Faculty of Agrobiological, Food and Natural Resources, Czech Agricultural University, Prague): **Red and Purple Potatoes – A Significant Antioxidant Source in Human Nutrition**

Potatoes are a significant antioxidant source in human nutrition. The main potato antioxidants are polyphe-

nols, L-ascorbic acid, carotenoids, tocopherols, α -lipoic acid, and selenium. Major phenolic constituents in potatoes are amino acid L-tyrosine, and polyphenolic antioxidants scopolin and caffeic, chlorogenic, cryptochlorogenic and ferulic acids. Red and purple potatoes contain anthocyanins acylated with hydroxycinnamic acids (such as ferulic and caffeic acid). Pigmented potatoes show a higher antioxidant potential than white-flesh potatoes. Red potato tubers contain glycosides of pelargonidin and

peonidin, purple potatoes glycosides of malvidin and peonidin. New red- and purple-flesh potato varieties are introduced due to their higher antioxidant contents and their use in food and non-food industry. Anthocyanins of potatoes are also useful in protection against potato blight. The most important topics studied are breeding of new varieties and cultivars with high anthocyanin contents, effects of fertilisation and cultivation region, storage and technology of processing, and stability of products.

**VÚFB a.s.**

U kabelovny 130, 102 01 Praha 10

si Vás dovoluje pozvat na 5. odbornou konferenci s mezinárodní účastí

„Moderní metody v syntéze a analýze aktivních farmaceutických substancí“

Konference se koná ve dnech 23. a 24. listopadu 2005 v kongresovém sále Obchodního centra firmy Zentiva, U kabelovny 130, Praha 10.

Tématické okruhy letošní konference jsou:

- asymetrické reakce, enantioselektivní katalýza,
- enzymatické metody v přípravě opticky aktivních látek,
- pokroky v syntéze ve vybraných skupinách léčiv,
- moderní analytické metody v hodnocení aktivních farmaceutických substancí.

Program bude upřesněn v červenci 2005 na stránkách www.vufb.cz.

Přihlášky či své dotazy prosím zasílejte na schneiderova@zentiva.cz (tel. 267 243 705).

Za organizační výbor konference
Ing. Miroslav Kuchař, DrSc.

MINIMALIZÁCIA OBSAHU AKRYLAMIDU V POTRAVINÁCH

ZUZANA CIESAROVÁ

Výskumný ústav potravinársky, Priemyselná 4,
824 75 Bratislava, Slovenská republika
ciesarova@vup.sk

Došlo 26.10.04, prijaté 10.6.05.

Kľúčové slová: akrylamid, Maillardova reakcia, asparagín, bezpečnosť potravín, minimalizácia expozície

Obsah

1. Úvod
2. Charakteristika a použitie akrylamidu
3. Výskyt akrylamidu v potravinách
4. Expozícia akrylamidom z prostredia a potravín
 - 4.1. Nepotravinová expozícia
 - 4.2. Potravinová expozícia
5. Mechanizmus vzniku akrylamidu v potravinách
6. Minimalizácia obsahu akrylamidu v potravinách
7. Záver

1. Úvod

Zistenie prítomnosti nečakane vysokých koncentrácií akrylamidu v niektorých potravinách dennej spotreby, ktoré zverejnila Švédská národná potravinová správa (NFA)^{1,2} v apríli 2002, vyvolalo mimoriadne veľkú pozornosť odborníkov na bezpečnosť potravín, a to najmä preto, lebo akrylamid je podľa Medzinárodnej agentúry pre výskum rakoviny IARC (cit.³) klasifikovaný v skupine 2A ako „pravdepodobne karcinogénny pre ľudí“. Následne bola jeho prítomnosť v mnohých druhoch tepelne spracovaných potravín potvrdená aj ďalšími inštitúciami (UK FSA (cit.⁴), WHO/FAO (cit.⁵), Európska komisia⁶, FDA/JIFSAN (cit.⁷)). Keďže problematika výskytu tohto kontaminantu v potravinách je relatívne nová, relevantná odpoveď na otázku ohrozenia ľudského zdravia konzumáciou potravín, ktoré ho obsahujú, si vyžaduje komplexný multidisciplinárny prístup odborníkov na potraviny, analytikov, toxikológov i manažérov rizika. Výskyt akrylamidu v potravinách, mechanizmus jeho vzniku, možnosti jeho eliminácie alebo minimalizácie jeho obsahu v potravinách a odhad zdravotného rizika majú z tohto dôvodu vysokú prioritu vo výskume významných inštitúcií na celom svete.

V Európe tieto aktivity koordinuje Európska komisia⁸ spolu s EFSA (cit.⁹) a podľa ich údajov bolo v roku 2004 v desiatich tematických okruhoch zapojených 156 výskumných projektov. Európska komisia stanovila nasledovné ciele⁹:

- vývoj spoľahlivých metód na meranie akrylamidu vo všetkých maticiacich,
- objasnenie mechanizmu vzniku akrylamidu v modelových systémoch a v potravinách,
- objasnenie karcinogénneho pôsobenia akrylamidu u človeka,
- výskum vzťahu medzi príjmom akrylamidu z potravín a tvorbou glycidamid-DNA aduktov,
- epidemiologické štúdie výskytu rakoviny v populácii so známou expozíciou akrylamidu.

Problematikou akrylamidu sa zaoberajú aj ďalšie svetové inštitúcie ako WHO/FAO (cit.^{10,11}), JIFSAN (cit.¹²), Codex Alimentarius – CC FAC (cit.¹³), CIAA (cit.¹⁴) a ďalšie, podporu má aj v 6. rámcovom programe v projekte HEATOX (cit.^{15,16}), ako i v ďalších medzinárodných projektoch (ICARE (cit.¹⁷), COST 927 (cit.¹⁸) ai). O tom, že táto aktuálna téma je v súčasnosti predmetom intenzívneho štúdia, svedčia aj mnohé vedecké publikácie v renomovaných svetových časopisoch. Dostatočné množstvo informácií je nevyhnutne potrebné pre stanovenie odhadu rizika¹⁹ na základe ktorého je možné určiť limity na maximálny obsah akrylamidu v rizikových potravinách a navrhnúť technologické zmeny pri produkcii, spracovaní a skladovaní potravín s cieľom minimalizácie jeho obsahu.

Článok podáva prehľadné informácie o tejto aktuálnej tematike z hľadiska výskytu, expozície, mechanizmu vzniku a možnosti redukcie obsahu akrylamidu v potravinách.

2. Charakteristika a použitie akrylamidu

Akrylamid ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CONH}_2$) je priemyselne vyrábaná tuhá kryštalická látka používaná ako monomér na výrobu netoxického polyakrylamidu. Akrylamid je zlúčnina bez farby a vône, s teplotou topenia 84,5 °C. Je rozpustný vo vode, acetóne a etanole, má vysokú mobilitu v pôde a podzemných vodách, je biodegradovateľný^{20,21}. Samotný akrylamid má široké použitie vo vedeckom výskume, kde sa využíva jeho schopnosť selektívne modifikovať skupiny SH v štruktúrnych a funkčných proteínoch²¹.

Akrylamid môže byť potenciálne prítomný v životnom prostredí ako dôsledok antropogénnych, ale aj prirodzených procesov. Akrylamid je tiež zložkou cigaretového dymu²², čo indikuje jeho tvorbu počas zahrievania biologických materiálov.

Tabuľka I
Potraviny s najčastejším výskytom akrylamidu²⁷

Potravínové produkty	Počet vzoriek	Koncentrácia akrylamidu [µg.kg ⁻¹]	
		stredná hodnota	max. hodnota
<i>Cereálie a cereálne produkty</i>	3304	343	7834
Cereálie a cestoviny surové a varené	113	15	47
Cereálie a cestoviny spracované (opekané, smažené, grilované)	200	123	820
Produkty na báze cereálie, všetky	2991	366	7834
Chlieb a rožky	1294	446	3436
Pečivo a keksy	1270	350	7834
Raňajkové cereálie	369	96	1346
Pizza	58	33	763
<i>Ryby a morské produkty</i>	52	25	233
<i>Mäso a vnútornosti</i>	138	19	313
<i>Mlieko a mliečne produkty</i>	62	5,8	36
<i>Orechy a olejoviny</i>	81	84	1925
<i>Strukoviny</i>	44	51	320
<i>Hľuzoviny</i>	2068	477	5312
Zemiakové pyr/zemiaková kaša/varené zemiaky	33	16	69
Pečené zemiaky	22	169	1270
Zemiakové lupienky	874	752	4080
Zemiakové hranolky	1097	334	5312
Zemiakové krokety (mrazené)	42	110	750
<i>Stimulanty a ich analógy</i>	469	509	7300
Káva (výluh), hotová	93	13	116
Káva (mletá, instantná alebo pražená, nie výluh)	205	288	1291
Kávové extrakty	20	1100	4948
Bezkofeinová káva	26	668	5399
Kávoviny	73	845	7300
Kakaové produkty	23	220	909
Zelený čaj ("pražený")	29	306	660
<i>Cukrovinky a med (hlavne čokoláda)</i>	58	24	112
<i>Zelenina</i>	84	17	202
Surová, varená alebo konzervovaná	45	4,2	25
Tepelne spracovaná (opekaná, pečená, smažená, grilovaná)	39	59	202
<i>Ovocie čerstvé</i>	11	<1	10
<i>Ovocie sušené, smažené, tepelne spracované</i>	37	131	770
<i>Alkoholické nápoje (pivo, gin, víno)</i>	66	6.6	46
<i>Chuťové prísady a omáčky</i>	19	71	1168
<i>Sušené mlieko pre detskú výživu</i>	82	<5	15
<i>Detská výživa (konzervovaná, zaváraná)</i>	96	22	121
<i>Detská výživa (sušená)</i>	24	16	73
<i>Detská výživa (piškóty, sucháre atď.)</i>	32	181	1217
<i>Sušené potraviny</i>	13	121	1184

3. Výskyt akrylamidu v potravinách

Akrylamid sa v žiadnej forme nepridáva do potravín, a teda jeho prítomnosť v potravinách má iný pôvod. Môže to byť jednak kontamináciou z vonkajšieho prostredia, kontaktom s obalovými materiálmi alebo, čo sa ukázalo ako najpravdepodobnejšie, samotným vznikom akrylamidu počas tepelnej úpravy potravín.

Stopové množstvá akrylamidu v potravinách je možné zistiť po použití akrylamidových polymérov alebo kopolymérov počas technologického spracovania potravín alebo ako dôsledok ich použitia v obaloch na potraviny. Pre akrylamidové polyméry prichádzajúce do styku s potravinami je povolený obsah voľného akrylamidu najviac 0,2 %. Pre použitie polyakrylamidu na úpravu pitnej vody je povolený obsah voľného akrylamidu v ňom 0,05 % (USA)²³, v EÚ je limit zvyškového monoméru v polyakrylamide stanovený na 0,1 % (cit.²⁴). Obsah zvyškového akrylamidu je limitovaný v aditívnych látkach, vo vode na oplachovanie ovocia a zeleniny, v papierových obaloch na potraviny²⁵ aj v modifikovanom škrobe^{3,26}. Tieto zdroje vysvetľujú prítomnosť akrylamidu vo väčšine druhov potravín v rozsahu 15–350 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Je však nepravdepodobné, že by kontakt potraviny s materiálmi, resp. s vodou alebo pôdou obsahujúcou polyakrylamid, bol príčinou vysokých koncentrácií akrylamidu (až do 12 000 $\mu\text{g kg}^{-1}$) zistených najmä v tepelne spracovaných produktoch. Jedná sa o potraviny upravované pri teplotách vyšších ako 120 °C, teda pečením, smažením, grilovaním alebo mikrovlnným ohrevom, a to najmä tie, ktoré obsahujú zároveň proteíny a sacharidy (zemiakové a cereálne produkty, káva)^{1,2}. Monitorovaniu potravín obsahujúcich akrylamid sa venujú mnohé svetové laboratória a databáza takýchto potravín je priebežne aktualizovaná na internetových stránkach WHO/FAO – JIFSAN, EC – EFSA, FDA, FSA, IRMM ai. zameraných na akrylamid.

Hlavné skupiny potravín s výskytom akrylamidu sú uvedené v tabuľke I (zdroj JECFA 2005 (cit.²⁷)).

4. Expozícia akrylamidom z prostredia a potravín

Človek môže byť potenciálne vystavený nepotravinovej a potravinovej expozícii akrylamidom.

4.1. Nepotravinová expozícia

- z pracovného prostredia pri výrobe a použití polyakrylamidu, a to dermálnou absorpciou akrylamidového monoméru z roztoku alebo inhaláciou suchého monoméru alebo aerosolu akrylamidového roztoku počas výroby akrylamidu a polyakrylamidu a počas prípravy polyakrylamidových gélov v laboratóriu²³,
- z kozmetických prípravkov – obsah akrylamidu v kozmetických prípravkoch sa v posledných rokoch redukuje zo 100 mg kg^{-1} na úroveň pod 0,5 mg kg^{-1} .

Denný príjem z kozmetiky klesol v dôsledku týchto opatrení na 0,7 $\mu\text{g kg}^{-1}$ telesnej hmotnosti/deň²⁸,

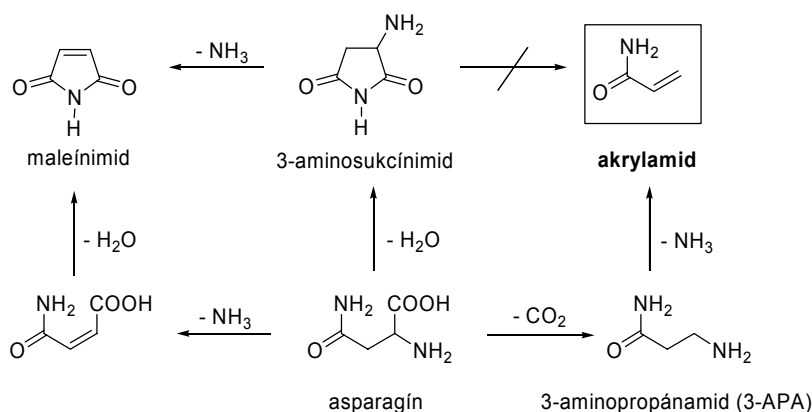
- z upravovanej pitnej vody po použití polyakrylamidových flokulantov. Priemerný denný príjem z tohto zdroja sa pohybuje okolo 3,6 ng kg^{-1} telesnej hmotnosti/deň²⁸,
- fajčenie – pri dennej spotrebe okolo 20 cigariet a obsahu 1–2 μg akrylamidu v jednej cigarete²³ môže príjem akrylamidu predstavovať 0,5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ telesnej hmotnosti/deň²⁸.

4.2. Potravinová expozícia

Expozícii akrylamidom z potravín je vystavená značná časť populácie, keďže potraviny, v ktorých sa akrylamid nachádza, tvoria asi jednu tretinu denného energetického príjmu²⁹. Aj keď je odhad denného príjmu akrylamidu zaťažený neistotou spôsobenou rozdielmi v jeho obsahu v rámci jednej komodity výrobkov – čo závisí od zloženia konkrétneho výrobku, spôsobu jeho spracovania a pod. – a spotrebou týchto potravín, ktorá široko varíruje regionálne i v rámci jednotlivých skupín obyvateľstva, podľa prvých údajov WHO (cit.⁵) bol odhad priemerného denného príjmu akrylamidu z potravín 0,3–0,8 $\mu\text{g kg}^{-1}$ telesnej hmotnosti. V najnovšej správe výboru JECFA (cit.²⁷) z februára 2005 sa uvádza, že po zohľadnení národných údajov zo 17 krajín, ktoré poskytli výsledky svojich pozorovaní, sa priemerný denný príjem akrylamidu v celej populácii odhaduje na 1 $\mu\text{g kg}^{-1}$ telesnej hmotnosti a pre vysoko zaťaženú skupinu asi 4 $\mu\text{g kg}^{-1}$ telesnej hmotnosti. Táto skupina zahŕňa aj deti a mládež, čo súvisí jednak s ich nižšou telesnou hmotnosťou, jednak so stravovacími návykmi mládeže. V tomto prípade však treba brať do úvahy, že v nadväznosti na možné karcinogénne dôsledky je doba expozície pomerne krátka. Najväčší podiel na dennom príjme akrylamidu majú vo väčšine krajín nasledovné potraviny²⁷: zemiakové hranolky (16–30 %), zemiakové lupienky (6–46 %), káva (13–39 %), pečivo a kekсы (10–20 %) a chlieb a hrianky (10–30 %). Podiel všetkých ostatných potravín na celkovej expozícii akrylamidom je menej ako 10 %.

5. Mechanizmus vzniku akrylamidu v potravinách

Ako už bolo spomínané, k vzniku akrylamidu v potravinách dochádza počas tepelného spracovania potravín. Za hlavný mechanizmus vzniku akrylamidu je všeobecne považovaná reakcia medzi voľnou geneticky kódovanou neesenciálnou aminokyselinou asparagínom a karbonylovými zlúčeninami^{30–34} ako súčasť Maillardovej reakcie, ktorá patrí medzi najvýznamnejšie a zároveň najrozšírenejšie chemické reakcie prebiehajúce počas skladovania a spracovania potravín. Maillardova reakcia³⁵ predstavuje súbor reakcií redukujúcich sacharidov s aminozlúčeninami, v priebehu ktorých vzniká celý rad veľmi reaktívnych

Schéma 1. Termálna degradácia asparagínu³⁸

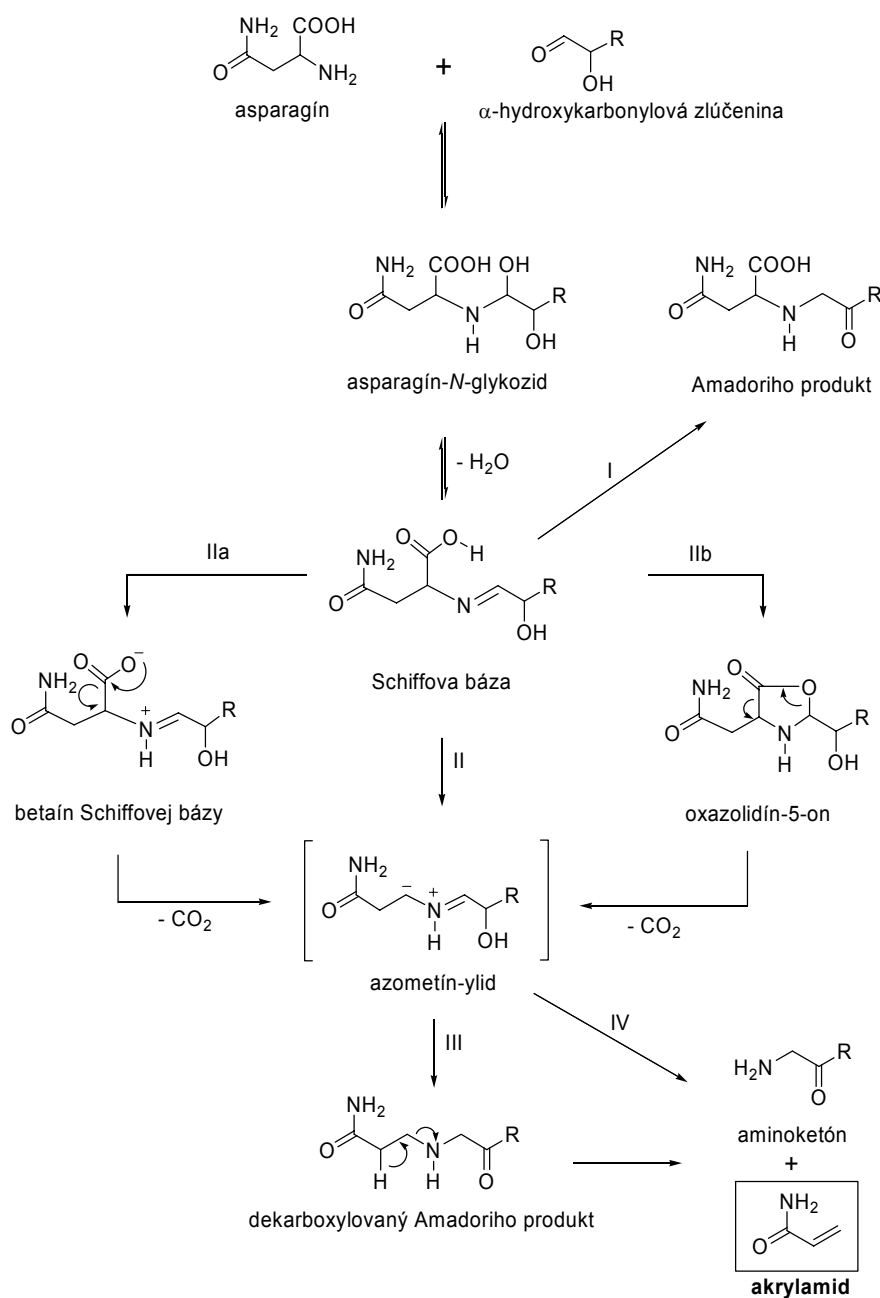
karbonylových zlúčenín, ktoré reagujú vzájomne a tiež s prítomnými aminoszlúčeninami. Sprievodným znakom týchto reakcií je vznik hnedých pigmentov, melanoidínov, a preto sa tieto reakcie nazývajú reakcie neenzymového hnednutia. Zároveň dochádza ku vzniku dôležitých žiaducich sensoricky aktívnych zlúčenín, ktoré dodávajú produktom charakteristické sfarbenie, chuť a vôňu, ale aj k tvorbe niektorých toxických zlúčenín s mutagénnymi a karcinogénnymi vlastnosťami.

Doterajšie štúdie poukázali na niekoľko možných ciest vzniku akrylamidu. Hoci termicky indukovanou dekarboxyláciou asparagínu na 3-aminopropánamid (3-APA) a následnou deamináciou môže vzniknúť akrylamid zo samotného asparagínu³⁶, prítomnosť redukujúcich sacharidov je nevyhnutná pre efektívnu konverziu asparagínu na akrylamid. Nasledujúce štúdie^{32,36} ukázali, že na tvorbe akrylamidu sa môžu podieľať akékoľvek karbonylové zlúčeniny a že asparagín sám uprednostňuje intramolekulárnu cyklizáciu³⁷ a tvorbu imidu (3-aminosukcínimid a následne maleínimid) pred dekarboxyláciou a tvorbou akrylamidu (schéma 1).

Mechanizmus vzniku akrylamidu z asparagínu v prítomnosti sacharidov má viacero alternatív. Mottram a spol.³¹ uvádzajú oxidatívnu dekarboxyláciu známu ako Streckerova degradácia, za vzniku Streckerovho aldehydu, ktorý po ďalších redukčných a dehydratačných krokoch môže konvertovať na akrylamid. Druhou možnosťou, ktorú publikovali Stadler a spol.³³, je vznik asparagín-*N*-glykozidu alebo Schiffovej bázy ako priameho prekursora akrylamidu. V podmienkach s nízkou vlhkosťou sú obidva tieto intermediáty relatívne stabilné. Vo vodnom prostredí môže Schiffova báza hydrolyzovať na prekursor alebo môže dôjsť k prešmyku na Amadoriho produkt, ktorý nie je efektívnym prekursorom tvorby akrylamidu (schéma 2 – dráha I)³⁹, čo je v súlade s nízkym výťažkom akrylamidu (menej ako 1 mol%). Finálna β -eliminácia^{30,31,33,37} je limitujúcim krokom a táto cesta tvorby akrylamidu je považovaná len za okrajovú (1–5 %)³⁰.

V podmienkach s vyššou vlhkosťou Schiffova báza môže dekarboxylovať na stabilný azometín-ylid, ktorý po tautomerizácii vedie k vzniku dekarboxylovaného Amadoriho produktu³⁵ (schéma 2 – dráha II a III). Predpokladom pre túto reakciu je prítomnosť skupiny OH v β -pozícii k N-atómu. Yaylayan a spol.³⁷ poskytli ďalšie detaily tohto navrhovaného mechanizmu založeného na náchylnosti imínov (alebo Schiffových betainov) tvorených z aminoskyselín a aldehydov podliehať intramolekulárnej cyklizácii, pričom vzniká intermediát oxazolidín-5-on (schéma 2 – dráha IIb). Nízka energetická náročnosť dekarboxylácie tohto intermediátu umožňuje paralelnú cyklizáciu, ktorá konkuruje termálne indukovanej dekarboxylácii a tým podporuje tvorbu akrylamidu v zmesi sacharid/asparagín. K tvorbe akrylamidu dochádza buď priamo rozštiepením azometín-ylidu (schéma 2 – dráha IV) alebo jeho hydrolyzou za vzniku 3-APA^{30,40,41}. Zyzak a spol.³⁶ navrhli podobný mechanizmus dekarboxylácie imínu, ale bez toho, aby vznikal oxazolidín-5-on (schéma 2 – dráha IIa). Hoci dekarboxylovaný Amadoriho produkt môže vzniknúť za miernych podmienok, vyžaduje zvýšenú teplotu na rozštiepenie kovalentnej väzby C–N a tvorbu akrylamidu³⁷. Dekarboxylovaný Amadoriho produkt vzniknutý reakciou asparagínu s redukujúcimi sacharidmi je teda kľúčovým prekursorom akrylamidu. Oba dekarboxylované produkty (Schiffova báza aj Amadoriho produkt) môžu tvoriť akrylamid buď priamo alebo nepriamo cez 3-APA. Dekarboxylovaný Amadoriho produkt podlieha β -eliminácii iniciovanej sacharidovým zvyškom za vzniku 3-APA alebo 1,2-eliminácii iniciovanej aminokyselinovým zvyškom priamo za vzniku akrylamidu. Dekarboxylovaná Schiffova báza môže hydrolyzovať a uvoľňovať 3-APA, alebo tiež podliehať 1,2-eliminácii za priameho vzniku akrylamidu³⁸.

Okrem týchto možností bolo v ďalšej štúdií⁴² na modelovom systéme ukázané, že za určitých podmienok sa môže na tvorbe akrylamidu podieľať aj akroleín a kyselina akrylová po reakcii s asparagínom, k čomu môže dôjsť napr. v potravinách bohatých na lipidy.

Schéma 2. Mechanizmus tvorby akrylamidu z asparagínu v prítomnosti α -hydroxykarbonylových zlúčenín³⁹

Koncentrácie akrylamidu zistené v potravinách sú výsledkom rovnováhy reakcií vzniku a eliminácie. Eliminačné reakcie akrylamidu prebiehajú s veľkým počtom potravinových zložiek, ako sú napr. inherentné nukleofily (amíny a tioly), pričom dôležitú úlohu majú aj tepelné degradačné produkty sacharidov a škrobu. Rýchle eliminačné reakcie môžu byť vysvetlením nízkych hladín akrylamidu v niektorých typoch potravín, napr. v mäse⁴³. Hladina akrylamidu klesá aj po prekročení určitej teploty, pri-

čom sa predpokladá, že rýchlosť eliminácie je väčšia ako rýchlosť tvorby.

Štúdie so značenými zlúčeninami [$6\text{-}^{13}\text{C}$]glukózou a [$1\text{-}^{15}\text{N}$]asparagínom dokázali, že skelet akrylamidu je tvorený z asparagínu^{33,36}. Produkcia akrylamidu z iných aminokyselín (okrem glutamínu) nebola významná. Iné aminokyseliny prítomné alebo pridané do potravín, napr. glycín⁴⁴, môžu reagovať s redukujúcimi sacharidmi, čím v konečnom dôsledku znižujú hladinu vznikajúceho akryl-

amidu. Množstvo vzniknutého akrylamidu je závislé na dostupnosti redukujúcich sacharidov a asparagínu. Rýchlosť tvorby je aproximovaná z bimolekulárnych reakcií glukózy, resp. fruktózy s asparagínom^{45,46}, treba však brať do úvahy aj príspevok následných krokov, ktoré determinujú rýchlosť. Viacero štúdií poukázalo na vplyv typu sacharidu na celkový výťažok akrylamidu. Ketosacharidy (fruktóza) sú efektívnejšie v tvorbe akrylamidu pri relatívne nízkej teplote a nízkej vlhkosti v porovnaní s aldosa-
 charidmi (glukóza). Fruktóza je dvakrát reaktívnejšia ako glukóza a dokonca 15× reaktívnejšia ako laktóza^{43,45}. V modelových reakciách medzi aminokyselinami a glukózou bol dosiahnutý výťažok akrylamidu približne 0,1 % (cit.^{32,45}). Sacharóza ako neredukujúci sacharid neprispieva k tvorbe akrylamidu, čo môže byť dôležité pri redukcii akrylamidu v niektorých potravinách, napr. medovníkoch⁴⁷.

Na reakciách neenzymového hneďnutia sprevádzajúceho Maillardovu reakciu sa zúčastňujú aj ďalšie karbonylové zlúčeniny (aldehydy, ketóny, sacharidy, lipidy) a aminozlúčeniny (amoniak, alkylamíny, aminokyseliny, proteíny, peptidy a fosfolipidy) za vzniku veľkého množstva zlúčenín. Niektoré z týchto reakčných produktov obsahujúce tri uhlíkové jednotky (napr. akroleín, propanal, propánitril, propánamid a metylglyoxal) môžu byť prekursorami akrylamidu. Naproti tomu, oxidácia lipidov a škrob nehrajú významnú úlohu v tvorbe akrylamidu v potravinách^{48–50}. Akrylamid je vo všeobecnosti tvorený v potravinách bohatých na škrob, avšak vplyv škrobu je limitovaný viac fyzikálnymi ako chemickými vlastnosťami škrobu, napr. jeho vplyv na obsah sušiny. Zahrievaním lipidov v neprítomnosti sacharidov bol zdrojom dusíka amoniak uvoľnený deamináciou aminokyselín⁴². Tento alternatívny mechanizmus však zatiaľ nie je potvrdený v reálnom potravinovom systéme.

6. Minimalizácia obsahu akrylamidu v potravinách

Asparagín, glukóza a fruktóza sú teda považované za hlavné prekursorov tvorby akrylamidu, pričom asparagín so svojou amidovou skupinou tvorí základ molekuly akrylamidu. Z doteraz poznaného mechanizmu tvorby akrylamidu v tepelne upravovaných potravinách je možné uvažovať o spôsoboch eliminácie vzniku akrylamidu v potravinách buď cestou znižovania obsahu asparagínu alebo redukcii obsahu sacharidov, zásahom do mechanizmu elimináciou prekursorov alebo úpravou technologického procesu spracovania potravín. Výber spôsobu je podmienený mnohými faktormi (zachovanie senzorických a kvalitatívnych vlastností výrobku, mikrobiologická bezpečnosť, technologická náročnosť spracovania ai.). V cereálnych produktoch je limitujúcim krokom dostupnosť asparagínu, v zemiakových produktoch zase dostupnosť redukujúcich sacharidov⁴³.

V cereálnych výrobkoch je možné dosiahnuť nižšie hodnoty akrylamidu cestou selekcie obilovín s nízkym

obsahom asparagínu⁴⁸, ktorý je dominantnou aminokyselinou v pšeničnej múke (14–16 %) a ražnej múke (18–26 %) ^{51,52}. Ďalšou možnosťou je aplikácia enzýmu asparaginázy počas prípravy cesta (patentové prihlášky US-20040101607 (cit.⁵³) a US-20040058046 (cit.⁵⁴)), použitie hydrogénuhličitanu sodného⁵⁵ ako kypriaceho prostriedku namiesto hydrogénuhličitanu amónneho, ktorý urýchľuje tvorbu akrylamidu^{43,45,47}, ďalej aplikácia sacharózy namiesto invertného sirupu⁵⁵, prípadne acetylácia asparagínu na *N*-acetyl-asparagín, čím sa predíde tvorbe *N*-glykozidových intermediátov, z ktorých sa tvorí akrylamid⁴⁸. Kombináciou niektorých z týchto postupov sa dá dosiahnuť ešte výraznejší efekt⁵⁵.

Zemiaky majú síce relatívne vysoký obsah asparagínu (38–40 % z celkového obsahu voľných aminokyselín)^{41,51}, ale jeho koncentrácia je relatívne konštantná. Väčší zásah do potenciálnej tvorby akrylamidu umožňuje regulácia obsahu redukujúcich sacharidov. Nižší obsah akrylamidu v zemiakových výrobkoch môže byť dosiahnutý selekciou kultivarov s nízkym obsahom sacharidov a so správnym pomerom glukózy a fruktózy⁴⁸, ale aj dodržaním technologických podmienok pri zbere, skladovaní a spracovaní zemiakov. Kultivary zemiakov s nízkym obsahom redukujúcich sacharidov majú aj nízky potenciál tvorby akrylamidu. Vplyvom skladovania však dochádza k významnej zmene. Zníženie teploty pod 8 °C má za následok dramatický nárast potenciálnej tvorby akrylamidu spôsobený prudkým nárastom obsahu redukujúcich sacharidov⁵⁶. Ďalším technologickým krokom na odstránenie asparagínu a sacharidov z povrchu očistených zemiakov je blanžirovanie a premývanie v horúcej alebo studenej vode⁵⁷. Teplotný režim spracovania výrobkov je takisto dôležitý, pretože tvorba akrylamidu sa začína pri teplote nad 100 °C a s rastúcou teplotou v rozmedzí 120 až 210 °C sa zvyšuje, ale zároveň stúpa aj rýchlosť degradácie^{43,45,58}. To znamená, že niektoré vzorky obsahujú viac akrylamidu pri vysokých teplotách, zatiaľ čo iné naopak.

Zaujímavé sú údaje týkajúce sa kávy. Obsah akrylamidu v káve závisí od druhu, šarže, podmienok praženia, v prípade rozpustnej kávy aj od podmienok extrakcie a sušenia⁵⁹. Rozsah teplôt praženia od 220 do 250 °C, doba a rýchlosť praženia podstatne ovplyvňujú senzorické vlastnosti kávy, ktoré sú charakteristické pre jednotlivé kávové produkty. Priemerný obsah akrylamidu v praženej zrnkovej káve sa pohybuje v rozsahu 170–351 µg kg⁻¹ (cit.⁴⁸). Pri relatívne nízkej koncentrácii akrylamidu v zrnách praženej kávy je vysoký príspevok kávy v expozícii akrylamidom (približne jedna tretina denného príjmu⁶⁰) spôsobený relatívne vysokou spotrebou kávy. Pri porovnaní dvoch druhov zelenej kávy (Robusta a Arabica) je všeobecne vyšší obsah akrylamidu v káve typu Robusta, čo súvisí s mierne vyššou koncentráciou voľného asparagínu v tomto type kávy⁶¹. Akrylamid v káve je tvorený na začiatku procesu praženia kávových zŕn^{39,48}. Na rozdiel od iných tepelne spracovaných potravín, pri ktorých s vyššou teplotou i dobou tepelného pôsobenia stúpa aj obsah akrylamidu, silnejšie pražené kávy majú nižší obsah akrylamidu (cca 5 µg l⁻¹ výluhu) ako stredne alebo slabšie pražené (cca

10 $\mu\text{g l}^{-1}$ výluhu)³⁹. Súvisí to s eliminačnými reakciami, ktoré prevládajú ku koncu dlhšie trvajúceho praženia kávy pri vyšších teplotách. Možnosti na zníženie obsahu akrylamidu sú v prípade kávy značne obmedzené, jednak je to úzky rozsah obsahu asparagínu v kávových zrnách (30–90 $\mu\text{g}/100 \text{ mg}$)⁶¹, nezávislosť obsahu akrylamidu od koncentrácie sacharidov v zelených zrnách, jednak špecifickosť procesu spracovania kávy, v ktorom už malá zmena má veľký dosah na senzorické vlastnosti a kvalitu kávy⁶². Pozoruhodné je, že obsah akrylamidu počas skladovania kávy pri izbovej teplote nie je stabilný a dochádza k 40–60 % stratám⁶¹, ale vzhľadom k tomu, že čerstvosť kávy patrí medzi základné atribúty jej kvality, ani tento fakt neposkytuje vhodnú možnosť na zníženie obsahu akrylamidu v káve.

Na redukciu obsahu už vzniknutého akrylamidu bolo v modelových systémoch použitých viacero spôsobov⁴⁸, napr. kyslá alebo enzýmová hydrolyza amidovej skupiny akrylamidu na kyselinu akrylovú a amoniak, polymerizácia akrylamidu na netoxický polyakrylamid pôsobením UV žiarenia, radiácie alebo voľnými radikálmi prítomnými vo fenolických zlúčeninách, flavonoidoch, Maillardových produktoch (melanín), tryptofane, v niektorých mastných kyselinách (kyselina arachidónová) a pod., reakcia akrylamidu so skupinou SH aminokyselín, esterov, peptidov a proteínov, úprava pH kyselinou citrónovou počas pečenia a smaženia⁶³. Tieto postupy však majú vážne obmedzenia v reálnych systémoch, pretože priamo zasahujú do kvality výrobku. Zatiaľ je málo preskúmané použitie antioxidantov pri redukcii obsahu akrylamidu v potravinách. V doteraz publikovaných výsledkoch je popísaný pozitívny vplyv prídavku rozmarínu³², kyseliny askorbovej a jej solí⁶⁴. Prídavok fenolických antioxidantov nemal pozitívne účinky na zníženie koncentrácie akrylamidu⁶⁵. Asi 50% zníženie obsahu akrylamidu bolo dosiahnuté aplikáciou zmesi korenia obsahujúceho flavonoidy⁶⁶. Je to pravdepodobne spôsobené antioxidačnými vlastnosťami flavonoidov a ich reakciami so zlúčeninami podieľajúcimi sa na tvorbe akrylamidu v potravinovej matici, ale mechanizmus pôsobenia nebol zatiaľ popísaný.

Úsilie o minimalizáciu obsahu akrylamidu našlo odzvu v mnohých krajinách. Napr. v Nemecku bola zavedená tzv. signálna hodnota pre kategórie potravinových výrobkov, ktoré patria medzi 10 % produktov s najvyšším obsahom akrylamidu^{67,68}. Pre každú z týchto kategórií bola fixne stanovená signálna hodnota, ktorá predstavuje 90 percentil obsahu akrylamidu v danej kategórii výrobkov. Pomocou tejto hodnoty je možné porovnať obsah akrylamidu v danom výrobku v rámci kategórie jemu podobných výrobkov. Cieľom tejto kategorizácie je dynamická a progresívna redukcia obsahu akrylamidu v priemyselne spracovaných výrobkoch, ktorá vyvíja tlak najmä na producentov. Ukázalo sa však, že pre mnohé výrobky tento zjednodušený prístup nie je vhodný a rýchle stanovenie fixných hodnôt nie je možné. Kvôli variabilite používaných surovín, agronomických a technologických faktorov a komplexnosti celého procesu spracovania potravín jednoduché praktické a ekonomické riešenie vlastne neexistuje. Pokrok v tejto oblasti je vždy kompromisom medzi

kvalitou výrobku, jeho akceptovateľnosťou spotrebiteľmi a potenciálnou hrozbou „neznámeho“ kontaminantu⁶².

7. Záver

Problematika akrylamidu, kontaminantu s karcinogénnymi účinkami vznikajúceho počas tepelnej úpravy potravín, vyvolala živý ohlas v zainteresovaných vedeckých, výrobných a spotrebiteľských kruhoch i v inštitúciách zodpovedných za bezpečnosť potravín. Odhadovaná priemerná expozícia akrylamidom z konzumácie potravín 1 μg na 1 kg telesnej hmotnosti denne pochádza predovšetkým z potravín na zemiakovej (hranolky, lupienky, placky) a cereálnej báze (chlieb, hrianky, müsli, cestoviny, pečivo, medovníky) a významný podiel na expozícii tvorí káva. Doterajšie úsilie o zníženie expozície akrylamidom cestou redukcie jeho koncentrácie v potravinách prinieslo najvýznamnejší pokrok v sektore zemiakových výrobkov⁶⁹, kde bola dosiahnutá redukcia obsahu akrylamidu o 50 až 80 %. Pri pekárenských výrobkoch sa zníženie obsahu akrylamidu týkalo len malého počtu komodít, nie však bežne rozšírených potravín (chlieb, káva). Možno očakávať, že po ďalších opatreniach, ako sú selekcia vhodných kultivarov, správne skladovanie zemiakov, dodržanie miernych podmienok spracovania zemiakových i cereálnych výrobkov počas výroby, v zariadeniach spoločného stravovania i v domácnostiach a širšej informovanosti spotrebiteľov o odporúčaní redukcie konzumácie kritických potravín, je možné dosiahnuť zníženie expozície na asi 20 až 40 μg akrylamidu denne pre všetkých spotrebiteľov, ďalšie zníženie je veľmi problematické⁶⁸. Reálny úspech minimalizácie zaťaženia obyvateľov akrylamidom veľmi závisí od prístupu zodpovedných inštitúcií k podpore optimalizačného procesu. Stále totiž zostávajú nezodpovedané otázky týkajúce sa detailného mechanizmu vzniku akrylamidu, merania expozície, jeho toxického pôsobenia v ľudskom organizme a relevantných epidemiologických štúdií. Informácie z týchto oblastí sú nevyhnutné, aby bolo možné určiť mieru skutočného rizika, stanoviť vhodný spôsob na jeho elimináciu a tieto informácie komunikovať v priemyselnom odvetví, oblasti gastronómie aj v celej populácii.

Z o z n a m s k r a t i e k

3-APA	3-aminopropánamid
CCFAC	Codex Committee on Food Additives and Contaminants
CIAA	Confederation of the EU Food and Drink Industries
EFSA	European Food Safety Authority
FAO/WHO	UN Food and Agriculture Organisation / World Health Organisation
FDA	Food and Drug Administration
FSA	Food Standard Agency
IARC	International Agency for Research of Cancer

IRMM	Institute for Reference Materials and Measurements
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives
JIFSAN	US Joint Institute for Food Safety and Applied Nutrition
NFA	Swedish National Food Administration

LITERATÚRA

- Tareke E., Rydberg P., Karlsson P., Eriksson S., Tornqvist M.: *J. Agric. Food Chem.* 50, 4998 (2002).
- Swedish National Food Administration – *Information about acrylamide in food – Mechanisms of formation and influencing factors during heating of foods*. Report from Swedish Scientific Expert Committee (2002). <http://www.slv.se/engdefault.asp>, stiahnuté 13.1.2003.
- IARC. Acrylamide. TA: IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans PG 1994; 60.
- FSA: *Study confirms acrylamide in food*. <http://www.food.gov.uk/news/>, stiahnuté 29.5.2003.
- FAO/WHO: *Consultation on the Health Implications of Acrylamide in Food*, Geneva, 25–27 June 2002. http://www.who.int/fsf/Acrylamide/Acrylamide_index.htm, stiahnuté 13.1.2003.
- European Commission: *Opinion of the Scientific Committee on Food on new findings regarding the presence of acrylamide in food*. SCF/CS/CNTM/CONT/4, 3 July 2002. http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/index_en.html, stiahnuté 13.1.2003.
- FDA/CFSAN – *FDA Draft Action Plan for Acrylamide in Food* – February 24, 2003. <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/acrylpla2.html>, stiahnuté 19.5.2003
- European Commission: *Food and Feed Safety* http://europa.eu.int/comm/food/food/chemicalsafety/contaminants/acryl_database_en.htm, stiahnuté 14.10.2004.
- EFSA: *Workshop on Acrylamide Formation in Food*, 17 November 2003, Brussels. http://www.efsa.eu.int/science/ahawdocuments/330/other_01_acrylamide_report_annex_en1.pdf, stiahnuté 3.5.2004.
- WHO/FAO: *Food Safety*. <http://www.who.int/foodsafety/chem/en/>, stiahnuté 13.1.2003.
- FAO/WHO: *Seminar on Acrylamide in Food*, Tanzania 2003. <http://www.fao.org/es/ESN/jecfa/acrylamide/program.htm>, stiahnuté 19.5.2003.
- JIFSAN/FDA: *2004 Acrylamide in Food Workshop*, Chicago 2004. <http://www.jifsan.umd.edu/acrylamide2004.htm>, stiahnuté 14.10.2004.
- Codex Alimentarius Commission: *Discussion Paper on Acrylamide*, Rotterdam 2004. http://europa.eu.int/comm/food/fs/ifsi/eupositions/ccfac/ccfac_04366_item15i_en.pdf, stiahnuté 14.10.2004.
- CIAA: *White Paper on Acrylamide*, Brussel 2003. <http://www.ciaa.be/uk/documents/publications/acrylamide.htm>, stiahnuté 14.10.2004.
- HEATOX: http://www.slv.se/templates/Heatox/Heatox_default_8424.asp, stiahnuté 14.10.2004.
- Hellenas K. E., Abramsson-Zetterberg L., Skog K.: *J. AOAC Int.* 88, 242 (2005).
- ICARE: <http://www.ctnc.es:81/noticias/pdf/AGROCSIC/Acrilamida.pdf>, stiahnuté 14.10.2004.
- COST 927: <http://www.if.csic.es/proyectos/cost927/index.htm>, stiahnuté 14.10.2004.
- Slayne M. A., Lineback D. R.: *J. AOAC Int.* 88, 227 (2005).
- OSHA – Occupational Safety and Health Administration, U.S Department of Labor: *Acrylamide*. <http://www.osha-slc.gov/dts/sltc/methods/organic/org021/org021.html>, stiahnuté 13.1.2003.
- EPA – *Acrylamide*. <http://www.epa.gov/iris/subst/0286.htm>, stiahnuté 25.2.2004.
- Smith C. J., Perfetti T. A., Rumble M. A., Rodgman A., Doolittle D. J.: *Food Chem. Toxicol.* 38, 371 (2000).
- CERHR *Reproductive and Developmental Toxicity of Acrylamide*, 2004: http://cerhr.niehs.nih.gov/news/acrylamide/final_report.pdf, stiahnuté 15.10.2004.
- EU: *European Union Risk Assessment Report: Acrylamide*. <http://dx.doi.org/10.1023/B:EJEP.0000006642.47761.1f>, stiahnuté 25.2.2004.
- EC: *Opinion on the Results of the Risk Assessment of Acrylamide (Human Health and the Environment)*, EINECS No.201-173-7. Brussels, 6–7 March 2001. http://www.europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out88_en.html, stiahnuté 4.12.2003.
- EC: *Opinion of the Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products Intended for Consumers Concerning Acrylamide Residues in Cosmetics*, SCCNFP, 30 September 1999. http://www.europa.eu.int/comm/food/fs/sc/sccp/out95_en.html, stiahnuté 4.12.2003.
- JECFA: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 64th meeting, Rome 8–17 Feb. 2005, http://www.fao.org/es/ESN/jecfa/whatisnew_en.stm, stiahnuté 5.3.2005
- Madle S., Broschinski L., Mosbach-Schulz O., Schoning G., Schulte A.: *Bundesgesundheitsbl. Gesundheitsforsch. Gesundheitsschutz* 46, 405 (2003).
- FAO/WHO: *Seminar on Acrylamide in Food: Tanzania*, March 2003. <http://www.fao.org/es/ESN/jecfa/acrylamide/petersen/sld017.htm>, stiahnuté 14.10.2004.
- JIFSAN: *2004 Acrylamide in Food Workshop*, Chicago, April 2004. http://www.jifsan.umd.edu/presentations/acry2004/acry_2004_wg1_report.pdf, stiahnuté 15.10.2004.
- Mottram D. S., Wedzicha B. L., Dodson A. T.: *Nature* 419, 448. (2002).
- Becalski A., Lau B. P.-Y., Lewis D., Seaman S. W.: *J. Agric. Food Chem.* 51, 802 (2003).

33. Stadler R. H., Blank I., Varga N., Robert F., Hau J., Guy P. A., Robert M. C., Riediker S.: *Nature* 419, 449 (2002).
34. Weishaar R., Gutsche B.: *Dtsch. Lebensm. Rundschau* 98, 397 (2002).
35. *Maillard Reaction in Food Chemistry and Medical Sciences: Update for the Postgenomic Era*. S. Horiuchi, N. Taniguchi, F. Hayase, T. Kurata, T. Osawa (Eds), International Congress Series 1245. Elsevier Science, Amsterdam 2002.
36. Zyzak D. V., Sanders R. A., Stojanovic M., Tallmadge M., Eberhart B. L., Ewald D. K., Gruber D. C., Morsch T. R., Strothers M. A., Rizzi G. P., Villigam M. D.: *J. Agric. Food Chem.* 52, 4782 (2003).
37. Yaylayan V. A., Wnorowski A., Perez Locas C.: *J. Agric. Food Chem.* 51, 1753 (2003).
38. Yaylayan V. A., Stadler R. H.: *J. AOAC Int.* 88, 262 (2005).
39. Studer A., Blank I., Stadler R. H.: *Czech J. Food Sci.* 22, 1 (2004).
40. Stadler R. H., Robert F., Riediker S., Varga N., Davidek T., Devaud S., Goldmann T., Hau J., Blank I.: *J. Agric. Food Chem.* 52, 5550 (2004).
41. Granvogl M., Jezussek M., Koehler P., Schieberle P.: *J. Agric. Food Chem.* 52, 4751 (2004).
42. Yashuhara A., Tanaka Y., Hengel M., Shibamoto T.: *J. Agric. Food Chem.* 51, 3999 (2003).
43. Biedermann M., Noti A., Biedermann-Brem S., Mozzetti V., Grob K.: *Mitt. Lebensm. Hyg.* 93, 668 (2002).
44. Brathen E., Kita A., Knutsen S. H., Wicklund T.: *J. Agric. Food Chem.* 53, 3259 (2005).
45. Biedermann M., Grob K.: *Mitt. Lebensm. Hyg.* 94, 406 (2003).
46. Amrein T. M., Bachmann S., Noti A., Biedermann M., Barbosa M. F., Biedermann-Brem S., Grob K., Keiser A., Realini P., Escher F., Amado R.: *J. Agric. Food Chem.* 51, 5556 (2003).
47. Amrein T. M., Schönbacher B., Escher F., Amado R.: *J. Agric. Food Chem.* 52, 4282 (2004).
48. Friedman M.: *J. Agric. Food Chem.* 51, 4504 (2003).
49. Mestdagh F., Meulenaer B., Peteghem C., Cromphout C., Thas O.: *Czech J. Food Sci.* 22, 11 (2004).
50. Stadler R. H., Verzeznassi L., Varga N., Grigorov M., Studer A., Riediker S., Schilter B.: *Chem. Res. Toxicol.* 16, 1242 (2003).
51. Doyle E.: *Reported free asparagine levels in foods*: Jan. 2003. <http://www.wisc.edu/fri/briefs/asparagine1102.pdf>, stiahnuté 13.5.2003.
52. Elmore J. S., Koutsidis G., Dodson A. T., Mottram D. S., Wedzicha B. L.: *J. Agric. Food Chem.* 53, 1286 (2005).
53. Zyzak D. V.: U.S. 20040101607, <http://www.uspto.gov/patft/>, stiahnuté 27.5.2004.
54. Zyzak D. V.: U.S. 20040058046, <http://www.uspto.gov/patft/>, stiahnuté 25.3.2004.
55. Vass M., Amrein T. M., Schönbacher B., Escher F., Amado R.: *Czech J. Food Sci.* 22, 19 (2004).
56. Noti A., Biedermann-Brem S., Biedermann M., Grob K., Albisser P., Realini P.: *Mitt. Lebensm. Hyg.* 94, 167 (2003).
57. Grob K., Biedermann M., Biedermann-Brem S., Noti A., Imhof D., Amrein T. M., Pfefferle A., Bazzocco D.: *Eur. Food Res. Technol.* 217, 185 (2003).
58. Biedermann M., Biedermann-Brem S., Noti A., Grob K.: *Mitt. Lebensm. Hyg.* 93, 653 (2002).
59. Bagdonaitė K., Murkovic M.: *Czech J. Food Sci.* 22, 22 (2004).
60. SFOPH: <http://www.bag.admin.ch/verbrau/lebensmi/Acrylamid/e/index.htm>, stiahnuté 4.12.2003.
61. CIAA: *Acrylamide Status Report*, Brussel 2004. http://europa.eu.int/comm/food/food/chemicalsafety/contaminants/ciaa_en.ppt, stiahnuté 1.2.2005.
62. Taeymans D., Wood J., Ashby P., Blank I., Studer A., Stadler R. H., Gondé P., Van Eijck P., Lalljie S., Lingnert H., Lindblom M., Matissek R., Muller D., Tallmadge D., O'Brien J., Thompson S., Silvani D., Whitmore T.: *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 44, 323 (2004).
63. Jung M. Y., Choi D. S., Ju J. W.: *J. Food Sci.* 68, 1287 (2003).
64. Rydberg P., Eriksson S., Tareke E., Karlsson P., Ehrenberg L., Tornqvist M.: *J. Agric. Food Chem.* 51, 7012 (2003).
65. Vatter D. A., Shetty K.: *Innovative Food Sci. Emerging Technol.* 4, 331 (2003).
66. Fernandez S., Kurppa L., Hyvonen L.: *Innovations Food Technol.* 18, 24 (2003).
67. EC: *European Commission Workshop*, 20–21 Oct. 2003. [http://europa.eu.int/comm/food/chemicalsafety/contaminants\(acryl:guidance.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/chemicalsafety/contaminants(acryl:guidance.pdf), stiahnuté 13.1.2004.
68. BVL: *Concept of minimising acrylamide contents in foodstuffs*. <http://www.bvl.bund.de/acrylamid/concept.htm>, stiahnuté 14.10.2004.
69. Grob K.: *J. AOAC Int.* 88, 253 (2005).

Z. Ciesarová (*Food Research Institute, Priemysel'ná 4, 824 75 Bratislava, Slovakia*): **Minimization of Acrylamide Content in Food**

The occurrence of toxic acrylamide in heat-treated food has caused a boom of activities associated with the research of food-borne contaminants. The presence of acrylamide in food, estimation of the exposure, the mechanism of its formation, and minimization of acrylamide content in potato products, cereals and coffee as well as new approaches to acrylamide reduction are the main topics of the article.

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

OBSAH RESVERATROLU V ZELENINĚ A OVOCI

IRENA KOLOUCHOVÁ^a, KAREL MELZUCH^a,
JAN ŠMIDRKAL^b a VLADIMÍR FILIP^b

^a Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, ^b Ústav technologie mléka a tuků, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5 166 28 Praha 6
irena.kolouchova@vscht.cz

Došlo 13.4.04, přepracováno 8.7.04, přijato 26.10.04.

Klíčová slova: resveratrol, zelenina, ovoce, antioxidanty, stanovení polyfenolů

Úvod

Polyfenolové sloučeniny představují významnou část sekundárních rostlinných metabolitů, které se běžně vyskytují u vyšších rostlin. Zvláště flavonoidy jsou účinnými antioxidanty díky své schopnosti reagovat s volnými radikály mastných kyselin a kyslíku.

Resveratrol (3,4',5-trihydroxystilben) je přírodně se vyskytující fytoalexin produkovaný některými rostlinami klasifikovanými jako spermatofyty jako odpověď na biotický a abiotický stres, např. napadení patogeny, UV záření, expozice ozónem nebo mechanické poškození¹⁻⁵. Resveratrol byl nalezen ve více než 72 rostlinných druzích, z nichž řada se uplatňuje i v lidské výživě^{6,7}. Při podrobnějších výzkumech byl nalezen např. v révě vinné, podzemnici olejné, v mnoha léčivých rostlinách⁸ a dalších.

Přípravky obsahující resveratrol byly využívány odedávna v japonské lidové medicíně (Kojō-kon) k léčbě opáření a spálenin, zánětlivých onemocnění (plísňových, bakteriálních), k léčbě aterosklerosy, poruch metabolismu tuků a pro celou řadu dalších terapeutických účelů⁹⁻¹². Jedním z nejbohatších zdrojů je plevelná rostlina *Polygonum cuspidatum*, běžně se vyskytující v Asii, jejíž extrakty z kořenů hrají důležitou roli v orientální medicíně. Chemopreventivní účinky resveratrolu souvisí s inhibicí hydroperoxidasy a cyklooxygenasy, jejichž aktivita je spojována s inicializací nádorového bujení, a také se snižováním hladiny cholesterolu v krvi^{3,10,13-15}.

Většinu chronických onemocnění (včetně srdečních) a mnoho typů rakoviny lze nepřímo ovlivnit konzumací potravin s antioxidantními vlastnostmi, včetně vitamínů C, E a β-karotenu. Potravinový rostlinného původu (např. zelenina, ovoce) jsou významným zdrojem antioxidantů a polyfenolových sloučenin, které se v organismu podílejí na

omezení oxidačních reakcí s možnými nepříznivými důsledky¹⁶.

Většina literatury se zabývá stanovením resveratrolu a vybraných antioxidantů ve vínech¹⁷⁻¹⁹, hroznech, případně slupkách nebo semenech hroznů^{5,20} a jen malá část se zabývá jejich obsahem v ostatních zdrojích např. v brusinkách²¹ a v pohance²². Mezi rostliny pozitivně testované na resveratrol můžeme řadit i ovoce a zeleninu (cibule, listová zelenina), čaj, morušu apod⁷. Resveratrol byl prokázán také v kořeni arašídů (*Arachis hypogaea*), v arašidech samotných a v arašídových produktech^{23,24}. Pražené arašídové obsahovaly nižší množství resveratrolu a vyšší obsah byl ve vařených arašidech²⁴.

Cílem práce bylo stanovit obsah resveratrolu a dalších vybraných fenolových látek v zelenině, arašidech a ovoci běžně dostupném v České republice. Byl stanovován obsah celkových polyfenolických látek (TP) a polyfenolů typu pyrokatecholu, resorcinolu a floroglucinu (CRP). Tyto markery odráží antioxidantní aktivitu vzorků. Resveratrol a kvercetin byly stanovovány HPLC s elektrochemickou detekcí.

Experimentální část

Resveratrol

trans-Resveratrol v krystalické podobě (v čistotě větší než 99 %) byl připraven totální syntézou²⁵. Standardní roztok *trans*-resveratrolu (10 mg l⁻¹) v 40 % v/v vodném ethanolu byl uchováván v temnu, při 4 °C. *cis*-Resveratrol byl získán 10 h expozicí roztoku *trans*-resveratrolu ve vodném ethanolu rozptýlenému dennímu světlu. Za těchto podmínek 80 % *trans*-resveratrolu isomerovalo na *cis*-isomer.

Kvercetin

Standardní roztok kvercetinu (Sigma, USA) o koncentraci 25 mg l⁻¹ v 40 % v/v vodném ethanolu byl uchováván při 4 °C.

Stanovení resveratrolu a kvercetinu

Trans- a *cis*-resveratrol a kvercetin byly stanovovány pomocí přístroje pro HPLC (3500, TSP, USA) s použitím elektrochemického detektoru HP 1049 s pracovní elektrodou ze skelného uhlíku (Hewlett-Packard, USA) při potenciálu 0,75 V. Extrakty byly filtrovány přes mikrofiltr (0,2 μm, Millipore, U.S.A.) a permeát (20 μl) byl nastříkovan na kolonu Nucleosil (Supelco, USA) 120-5-C18 (250 × 4 mm, 5 μm) s předkolonou (10 × 4 mm) se stejnou stacionární fází. Byla použita isokratická eluce (mobilní fáze obsahovala: 25 % acetonitrilu, 0,1 % H₃PO₄ a NaCl (*c* = 5 mmol l⁻¹)) s průtokem 1,0 ml min⁻¹. Identifikace a kvanti-

fikace resveratrolu a kvercetinů byla prováděna metodou standardního přídatku.

V z o r k y

Byly analyzovány vzorky zeleniny, arašídů a ovoce běžně dostupné na trhu v ČR. Šlo o vzorky čínské zelí, bílého a červeného zelí, květáku, růžičkové kapusty, kapusty, brokolice, česneku, žluté a červené cibule, čekanky, hlávkového, ledového salátu a salátu Lollo Rosso, špenátu, mrkve, petržele, červené řepy, podzemnice olejné, višně obecné, maliníku, ostružiníku, aronie černé, jeřábu moravského, borůvky, černého a červeného rybízu a angreštu.

Extrakce rostlinných materiálů

Čerstvé vzorky zeleniny, ořechů a ovoce byly po rozmělnění extrahovány v 80 % (v/v) ethanolu (za studena) po dobu 24 hodin. Poměr rostlinného materiálu k přidávanému extrakčnímu roztoku byl 1:3. Extrakce byla prováděna ve tmě a kapalná fáze byla po extrakci separována od tuhé filtrací (0,2 μm , Millipore, U.S.A.). Získaná data byla přepočítána na sušinu původního vzorku.

Výsledky

Opakovatelnost, linearita, detekční limit analytu

Opakovatelnost byla stanovena metodou opakovaného nástřiku standardních roztoků *trans*-resveratrolu (10 mg l^{-1}) a kvercetinů (25 mg l^{-1}) za vybraných optimálních podmínek. Relativní standardní odchylka (RSD) byla pro *trans*-resveratrol 1,78 % pro výšku píku a 1,42 % pro retenční čas (13,5 min, $n = 9$) a pro kvercetin byla RSD 2,05 % pro výšku píku a pro retenční čas 1,45 % (24,1 min, $n = 9$).

Pro stanovení linearit metody, byla testována koncentrační řada *trans*-resveratrolu od 10 $\mu\text{g l}^{-1}$ do 10 mg l^{-1} a kvercetinů od 50 $\mu\text{g l}^{-1}$ do 25 mg l^{-1} . Kalibrační křivka *trans*-resveratrolu vykazovala linearitu v celém koncentračním rozsahu s korelačním koeficientem 0,9997 a kalibrační křivka kvercetinů vykazovala linearitu v koncentračním rozmezí 50 $\mu\text{g l}^{-1}$ až 15 mg l^{-1} s korelačním koeficientem 0,9986. Detekční limit *trans*-resveratrolu byl 8 $\mu\text{g l}^{-1}$ a kvercetinů 35 $\mu\text{g l}^{-1}$ (3 S/N).

V ý t ě ŝ n o s t

Výtěžnost a reprodukovatelnost stanovení za optimálních podmínek byla provedena vyhodnocením přesnosti a správnosti metody. Správnost metod byla ověřena Studentovým t-testem. Výsledky ukázaly, že na hladině významnosti 95 % poskytují metody správné výsledky. Výtěžnost stanovení *trans*-resveratrolu a kvercetinů ve vzorcích zeleniny, zeleného čaje, chmele a ořechů za optimálních podmínek byla stanovena metodou standardního přídatku ($n = 5$). Relativní standardní odchylka (RSD) ve všech reálných vzorcích u *trans*-resveratrolu i kvercetinů při $n = 5$ byla v rozmezí 1,1–2,1 %.

A n a l ý z a v z o r k ů

Ve všech analyzovaných vzorcích zeleniny byla zaznamenána alespoň stopová množství resveratrolu (tab. I). Větší množství obsahovaly červená řepa a červená cibule a nejvyšší koncentrace byla stanovena u špenátu (až 0,02 $\text{mg/g}_{\text{suš}}$). Stanovené hodnoty se pohybovaly v rozmezí 0,005 až 0,02 $\text{mg/g}_{\text{suš}}$. Stanovené koncentrace kvercetinů se pohybovaly od stopových množství do 0,76 $\text{mg/g}_{\text{suš}}$, tato maximální koncentrace byla zjištěna u vzorku hlávkové kapusty. Většina hodnot se pohybovala od 0,02 do 0,14 $\text{mg/g}_{\text{suš}}$. Nejmenší obsah analyzovaných látek byl kromě vzorku ledového salátu zjištěn také u česneku, u nichž stanovené koncentrace resveratrolu i kvercetinů byly podprůměrné. Bylo zjištěno, že z hlediska obsahů celkových polyfenolů (TP) se hodnoty pohybují v rozmezí 5 $\text{mg/g}_{\text{suš}}$ (mrkev) a 30 $\text{mg/g}_{\text{suš}}$ (červené zelí), u látek typu pyrokatecholu, resorcinolu a floroglucinu (CRP) v rozmezí 0,02 (mrkev) až 0,08 $\text{mg/g}_{\text{suš}}$ (červená řepa a petržel).

U burských oříšků bylo zjištěno, že koncentrace resveratrolu v analyzovaných vzorcích ořechů byla celkově nižší (tab. II). Nalezené hodnoty se pohybovaly mezi 0,002 a 0,0015 $\text{mg/g}_{\text{suš}}$. Větší množství resveratrolu sice bylo nalezeno v červenohnědých slupkách, ale ani tato koncentrace nepotvrdila očekávané hodnoty²⁵. Nejvyšší obsah

Tabulka I

Nalezený obsah resveratrolu a kvercetinů ve vzorcích zeleniny ($\text{mg/g}_{\text{suš}}$)

Zelenina	Resveratrol			Kvercetin
	<i>trans</i> -	<i>cis</i> -	celkem	
Čínské zelí	0,0092	stopy ^a	0,0092	0,073
Bílé zelí	0,0076	stopy ^a	0,0076	0,12
Červené zelí	0,011	0,0041	0,015	0,14
Květák	stopy ^a	stopy ^a	stopy ^a	0,031
Růžičková kapusta	0,015	stopy ^a	0,015	0,10
Kapusta	0,0035	0,0035	0,0070	0,76
Brokolice	0,010	0,0046	0,015	0,040
Česnek	0,0021	0,0016	0,0040	0,023
Žlutá cibule	stopy ^a	stopy ^a	stopy ^a	0,040
Červená cibule	0,0038	0,0034	0,0070	0,034
Čekanka	0,012	stopy ^a	0,012	stopy ^a
Salát hlávkový	stopy ^a	stopy ^a	stopy ^a	stopy ^a
Ledový salát	stopy ^a	stopy ^a	stopy ^a	stopy ^a
Salát Lollo Rosso	0,0068	stopy ^a	0,0070	0,043
Špenát	0,010	0,0061	0,016	0,038
Mrkev	0,0038	stopy ^a	0,0040	0,030
Petržel	stopy ^a	0,0047	0,0047	0,064
Červená řepa	0,0075	stopy ^a	0,0075	0,017

^a Hodnota pod mezí stanovitelnosti

Tabulka II

Nalezený obsah resveratrolu a kvercetinů ve vzorcích burských oříšků (mg/g_{suš})

Část	Resveratrol			Kvercetin
	<i>trans</i> -	<i>cis</i> -	celkem	
Jádro	0,0004	0,0020	0,0024	0,023
Vnější slupka	0,0079	0,0014	0,0092	0,11
Skořápka	0,012	0,0028	0,015	5,9

Tabulka III

Nalezený obsah resveratrolu a kvercetinů v ovoci (mg/g_{suš})

Ovoce	Resveratrol			Kvercetin
	<i>trans</i> -	<i>cis</i> -	celkem	
Višeň obecná	0,0060	stopa ^a	0,0060	0,0065
Maliník obecný	stopa ^a	stopa ^a	stopa ^a	0,0044
Ostružiník	0,0008	stopa ^a	0,0008	0,022
Aronie černá	0,031	0,0011	0,032	0,035
Jeřáb moravský	0,0009	stopa ^a	0,0009	0,011
Borůvka černá	stopa ^a	stopa ^a	stopa ^a	0,0096
Černý rybíz	0,015	0,0009	0,016	0,012
Červený rybíz	0,0012	stopa ^a	0,0012	0,0082
Angrešt	stopa ^a	stopa ^a	stopa ^a	0,0035

^a – Hodnota pod mezí stanovitelnosti

resveratrolu byl obsažen v dřevitých skořápkách ořechů, což bylo naopak předpokládáno²⁴. Při srovnání nalezených hodnot kvercetinů byl zvýšený obsah opět nalezen v dřevitých skořápkách (6 mg/g_{suš}). Největší množství TP bylo v hnědočervených slupkách arašídů (3 mg/g_{suš}). Při srovnání jednotlivých částí z hlediska obsahu látek typu CRP byl největší obsah potvrzen ve vnitřních slupkách (~ 6 mg/g_{suš}).

K problematice obsahu resveratrolu v ovoci nebyl nalezen žádný odpovídající materiál, a proto naše výsledky nelze s ničím porovnat. Byly prováděny analýzy resveratrolu v bobulovém ovoci a v některých peckovinách (tab. III). Většina analyzovaného ovoce obsahovala stopová množství resveratrolu a pouze černý jeřáb (aronie) a černý rybíz měly významnější množství resveratrolu (0,032 mg/g_{suš} a 0,016 mg/g_{suš}). Z peckovin byla nejvyšší koncentrace zjištěna u višně (0,006 mg/g_{suš}), u ostatních peckovin byla nalezena stopová množství nebo množství pod mezí detekce. Bylo překvapením, že ani borůvky neměly obsah resveratrolu nad mezí stanovitelnosti.

Diskuse

Průměrné poměry mezi obsahy resveratrolu, kvercetinů, TP a CRP (zelenina, ořechy a ovoce) lze číselně vyjádřit jako 1 : 50 : 1000 : 10.

Svého druhu je prezentovaná studie jedinečná, protože porovnáním obsahů těchto látek, které se uvádějí jako významné pro lidské zdraví a prevenci chorob, se žádá z publikací nezabývala. A také předložené výsledky vyvracejí některé dávné mýty např. o obsahu polyfenolových látek v česneku, kdy se námi naměřené hodnoty jeví jako podprůměrné. Naopak ve srovnání s ostatními druhy zeleniny bylo značné množství těchto látek zjištěno např. v zelí a naťové petrželi. Nejvyšší množství resveratrolu bylo stanoveno v červeném zelí a špenátu.

LITERATURA

- Schubert R., Fischer R., Hain R., Schreier P. H., Bahnweg G., Ernst D., Sandermann H.: *Plant Mol. Biol.* 34, 417 (1997).
- Grimming B., Schubert R., Fische R., Hain R., Schreier P. H., Betz Ch., Ernst D., Sandermann H.: *Acta Physiol. Plant.* 19, 467 (1997).
- Frémont L.: *Life Sci.* 66, 663 (2000).
- Sorheeswaran S., Pasupathy V.: *Phytochemistry* 32, 1083 (1993).
- Soleas G. J., Diamandis E. P., Goldberg D. M.: *Clin. Biochem.* 30, 91 (1997).
- Arce L., Tena M. T., Rios A., Valcárcel M.: *Anal. Chim. Acta* 359, 27 (1998).
- Jang M., Cai L., Udeani G. O., Slowing k. V., Thomas C. F., Beecher C. W. W., Fong H. H. S., Farnsworth N. R., Kinghorn A. D., Mehta R. G., Moon R. C., Pezzuto J. M.: *Science* 275, 218 (1997).
- Oleszek W., Sitek M., Stochmal A., Piacente S., Pizzi C., Cheeke P.: *J. Agric. Food Chem.* 49, 747 (2001).
- Lamuela-Raventós R. M., Romero-Pérez A. I., Waterhouse A. L., de la Torre-Boronat M. C.: *J. Agric. Food Chem.* 43, 281 (1995).
- Belguendouz L., Fremont L., Linard A.: *Biochem. Pharmacol.* 53, 1347 (1997).
- Trela B. C., Waterhouse A. L.: *J. Agric. Food Chem.* 44, 1253 (1996).
- Gao L., Chu Q., Ye J.: *Food Chem.* 78, 255 (2002).
- Kawada N., Seki S., Inoue M., Kuroki T.: *Hepatology* 27, 1265 (1998).
- Romero-Pérez A. I., Lamuela-Raventós R. M., Waterhouse A. L., de la Torre-Boronat M.C.: *J. Agric. Food Chem.* 44, 2124 (1996).
- Savouret J. F., Quesne M.: *Biomed. Pharmacother.* 56, 84 (2002).
- Weisburger J.H.: *Food Chem. Toxicol.* 37, 943 (1999).
- Leško J., Kakalíková L., Bobeková V., Lešková L.: *Vinohrad* 4, 75 (1998).
- Romero-Pérez A. I., Lamuela-Raventós R. M., Waterhouse A. L., de la Torre-Boronat M.C.: *J. Agric. Food Chem.* 44, 2124 (1996).
- Lamuela-Raventós R. M., Romero-Pérez A. I., Waterhouse A. L., de la Torre-Boronat M. C.: *J. Agric. Food Chem.* 43, 281 (1995).
- Okuda T., Yokotsuka K.: *Am. J. Enol. Vitic.* 47, 93 (1996).

21. Wang Y., Catana F., Yang Y., Roderick R., van Breen R. B.: *J. Agric. Food Chem.* 50, 431 (2002).
22. Quian J.-Y., Mayer D., Kuhn M.: *Dtsch. Lebensm.-Rundsch.* 9, 343 (1999).
23. Chen R.-S., Wu P.-L., Chiou Y.-Y.: *J. Agric. Food Chem.* 50, 1665 (2002).
24. Sobolev V. S., Cole R. J.: *J. Agric. Food Chem.* 47, 1435 (1999).
25. Šmidrkal J., Filip V., Melzoch K., Hanzlíková I.: *Chem. Listy* 95, 602 (2001).
26. Sobolev V.S.: *J. AOC Int.* 78, 1177 (1995).

I. Kolouchová^a, K. Melzoch^a, J. Šmidrkal^b, and V. Filip^b (^a *Department of Fermentation Chemistry and Bioengineering,* ^b *Department of Dairy and Fat Technology, Institute of Chemical Technology, Prague*): **The Content of Resveratrol in Vegetables and Fruit**

Resveratrol and other polyphenolic compounds are currently in the limelight all over the world due to their beneficial effects on the human body. This work describes the occurrence and determination of *trans*-resveratrol, *cis*-resveratrol and quercetin in various vegetables and fruits. An HPLC method with electrochemical detection is used for the determination. The concentrations of resveratrol were found to range from trace quantities up to 0.03 mg per g of dry weight of *trans*-resveratrol and 0.006 mg/g of *cis*-resveratrol. The highest known concentration was found in red cabbage and spinach, while a surprisingly low concentration was found in garlic. The quercetin content ranged from 0.003 mg/g to 5.9 mg/g. At the same time, we determined the total contents of polyphenolics and materials of the benzenediol type: their concentrations were found to range from 2 to 550 and from 0.005 to 6 mg/g, respectively.

**Česká společnost chemická,
Ústav chemie a technologie sacharidů VŠCHT Praha
a Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR**

pořádají

konferenci „Struktura a biologické účinky polysacharidů a jejich derivátů“

11.11.2005, 8,30 až 16,00 h na Novotného lávce 5, Praha 1

Předběžný program konference:

- Čopíková J.: Úvodní přednáška
- Synytsya A.: Deriváty pektinu
- Marounek M.: Metabolismus pektinu a fyziologické účinky jeho derivátů
- Jablonský I.: Glukany v bazidiomycetách a jejich specifika
- Maryška M.: PM polysacharidů a dalších přírodních materiálů
- Erban V.: Testování polysacharidů jako prebiotika
- Spěváček J.: Strukturální charakterizace β -glukanů ¹³C NMR spektroskopii pevného stavu
- Šimánek V.: β -Oligofruktany z jakonu (*Smallanthus sonchifolius*) jako prebiotika v doplňcích stravy
- Větvíčka V.
- Posterová sekce

Vložené 500 Kč zahrnuje CD s plnými texty přednášek. Abstrakta budou publikována v Chemických listech č. 9/2005.

Je možné zajistit ubytování na kolejích na Jižním městě. Předpokládá se i zájem pasivních účastníků bez odborného příspěvku.

Posunutá uzávěrka přihlášek a zaslání abstraktů příspěvků je 29. července 2005.

Bližší informace na adrese <http://www.multiweb.cz/polysacharidy> .

Kontaktní adresa: Česká společnost chemická, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1, tel.: 221 082 370, tel/fax: 222 220 184, e-mail: chem.listy@csvts.cz

APLIKACE SPEKTROFLUORIMETRICKÉHO STANOVENÍ ESTERAS V ROSTLINNÉM MATERIÁLU

JAN VÍTEČEK^a, VOJTĚCH ADAM^b,
JIŘÍ PETŘEK^a, PETR BABULA^c, PAVLA
NOVOTNÁ^d, RENÉ KIZEK^b a LADISLAV HAVEL^a

^aÚstav biologie rostlin, ^bÚstav chemie a biochemie, MZLU Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, ^cÚstav přírodních léčiv, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého 1/3 612 42 Brno, ^dÚstav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv, Hudcova 56a, 621 00 Brno
vitecek@mendelu.cz

Došlo 19.3.04, přepracováno 2.11.04, přijato 10.3.05.

Klíčová slova: bakterie, buněčná suspenze, cibule kuchyňská, esterasy, smrk ztepilý, spektrofotometrie, tabák

Úvod

Esterasy katalyzují hydrolytické štěpení molekul jednoduchých esterů obsahujících krátké uhlíkaté řetězce¹. V rostlinných buňkách a pletivech se účastní mnoha biochemických dějů, např. výstavby buněčné stěny², degradace některých xenobiotik^{3,4} a signálních procesů⁵. Na rozdíl od mikrobiálních¹ nejsou rostlinné esterasy používány jako biokatalyzátory v organické syntéze. Nicméně z výše uvedeného vyplývá, že představují značný potenciál pro rostlinné biotechnologie^{6–10}. Díky své souvislosti s buněčným metabolismem slouží esterasy jako ukazatel životaschopnosti^{11–13}. Kromě toho některé práce upozornily na fakt, že aktivita intracelulárních esterů buněčné suspenze je přímo úměrná počtu živých buněk^{13–15}. Cílem této práce bylo využít intracelulární esterasy jako ukazatele hustoty živých buněk v několika experimentálních systémech a využít získaná data pro konstrukci růstové křivky.

Experimentální část

Chemikálie a přístroje

Pokud není uvedeno jinak, byly použity chemikálie dodané firmou Lachema Neratovice (ČR) v čistotě p.a. Fosfátové pufrы byly připraveny z hydrogen- a dihydrogenfosforečnanu draselného. Jejich pH bylo upraveno pomocí KOH. Fluoresceindiacetát (FDA) byl zakoupen u firmy Sigma Aldrich Chemical Corp. (USA). Používán byl jeho roztok v bezvodém acetonu. Na kultivační media byly použity chemikálie dodané firmou Duchefa Bioche-

mie BV (Nizozemí). Media a roztoky byly připraveny rozpuštěním příslušných látek v deionizované vodě (18,2 MW, Iwa 20, Watek, ČR).

Veškeré centrifugace byly provedeny na centrifuze MR 22 (Jouan, USA). Fluorescence byla měřena fluorimetrem RF-551 (Shimadzu Scientific Instruments Inc., USA).

Biologický materiál

Buněčná suspenze BY-2

Buněčná suspenze tabáku (*Nicotiana tabacum*) linie BY-2 byla udržována v tekutém mediu podle Murashiga a Skooga¹⁶ modifikovaném podle Nagaty¹⁷. Suspenze (20 ml) v 50 ml Erlenmeyerových baňkách byla umístěna na třepačce (Kühner Shaker LT-W, Adolf Kühner AG, Švýcarsko) při 27 ± 1 °C a 135 ot min^{-1} ve tmě. Subkultivace probíhala dvakrát týdně. Pro experimenty byla použita kultura založená z 1 ml inokula.

Raná somatická embrya (ESE) smrku ztepilého klon 2/32

ESE smrku ztepilého (*Picea abies* (L.) Karst.) byla kultivována na polotuhém mediu¹⁸ modifikovaném podle autorů¹⁹. Kolonie složené z mnoha ESE byly umístěny na povrchu media ve 100 mm široké Petriho misce. Kultura byla udržována ve tmě při teplotě 23 ± 2 °C. Subkultivace byla prováděna po dvou týdnech. Pro účely experimentů byla kultura sledována během jednoho týdne od založení. Růst kultury ESE byl sledován počítačovou analýzou obrazu¹². Počet ESE ve vzorku byl zjišťován na základě empirické korelace: 1 mg biomasy odpovídá 15 ESE (cit.¹²).

Suspenzní kultura cibule

Kalus cibule kuchyňské (*Allium cepa* L.) byl odvozen na VFU v Brně z báze cibule na mediu podle Murashiga a Skooga modifikovaném (medium I) 30 g l^{-1} sacharosy, $0,2 \text{ mg l}^{-1}$ kyseliny 2,4-dichlorfenoxycetové, 1 mg l^{-1} kyseliny 2-naftylacetové a 1 g l^{-1} gelritu (náhražka agaru). Dále byl udržován na mediu podle Murashiga a Skooga modifikovaném (medium II) 30 g l^{-1} sacharosy, $0,2 \text{ mg l}^{-1}$ kyseliny 2,4-dichlorfenoxycetové a 1 g l^{-1} gelritu. Subkultivace probíhala jednou za měsíc. Suspenzní kultura byla připravena roztřepáním výše uvedeného kalusu v kapalném mediu II (bez gelritu). Pro experimenty byla použita kultura založená přenesením 5 ml roztřepaného kalusu do 15 ml čerstvého media II.

Bakteriální kultury

Kultury bakterií *Escherichia coli* CCM 3954, *Staphylococcus aureus* CCM 2022 a *Staphylococcus epidermidis* CCM 4418 byly udržovány na šikmých masopeptonových agaroch při 37 °C ve tmě. Z agaru byly přeneseny do 20 ml kapalného media (16 g l^{-1} trypton, 10 g l^{-1} kvasničný extrakt a 5 g l^{-1} chlorid sodný). Po 24 h kultivace ve tmě na třepačce při 37 °C a 100 ot min^{-1} byl založen experiment přenesením 100 ml inokula do 20 ml čerstvého media. Kapalně kultury byly charakterizovány prostřednictvím absorbance při 600 nm (OD_{600}) (cit.^{20,21}).

Test životaschopnosti a stanovení hustoty suspenze

Vzorek kultury doplněný čerstvým médiem na objem 50 ml byl inkubován 5 min při pokojové teplotě s FDA ($1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$) a PI ($20 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$)²². Zastoupení živých (zeleně zbarvených) a mrtvých (červeně zbarvených) buněk bylo vyhodnoceno fluorescenčním mikroskopem (Olympus AX 70) vybaveným pro širokopásmovou UV excitaci (systém filtrů U-MWU). Hustota suspenze (počet buněk na ml suspenze) BY-2 byla stanovena mikroskopicky přímým počítáním ve Fuchsově-Rosenthalově komůrce.

Stanovení aktivity intracelulárních esterás

Kultura cibule (1 ml) a kultura tabáku (0,2 ml) byla sklizena 10 min centrifugací při 360 g a 20 °C. Shluky ESE byly odebrány z tuhého media. Suspenze bakterií (1 ml) byla sklizena centrifugací při 2000 g a 20 °C. Získaná biomasa byla dvakrát promyta extrakčním pufrům (250 mM fosfát, pH 8,7). Veškerá biomasa byla uchovávána při -20 °C. Vzorky byly po rozmrazení doplněny na celkový objem 1 ml (0,2 ml u cibule) extrakčním pufrům a desintegrovány ve skleněném pístovém homogenizátoru (Kavalier, ČR) uloženém v ledové lázni po dobu 10 min. K bakteriální biomase bylo přidáno 100 μl extrakčního pufru a cca 1/5 celkového objemu skleněného prachu (velikost částic 25 μm , Ultrasonic). Směs byla po 20 min intenzivně promíchávána na třepačce (1400 ot min^{-1}) při 4 °C a pak byla umístěna v ledu do ultrazvukové lázně na dobu 20 min. Získané rostlinné a bakteriální homogenáty byly centrifugovány (10 000 g, 15 min, 4 °C). Alikvot čirého extraktu byl přidán do reakční směsi obsahující fosfátový pufr (250 mM, pH 8,7) a 5 mM FDA, jehož zásobní roztok v bezvodém acetonu byl uchováván v uzavřených nádobkách při -20 °C. Množství acetonu v reakční směsi nepřekročilo 1 % (v/v). Po 15minutové inkubaci v termostatu při 35 °C byla změřena fluorescence – excitace 490 nm / emise 514 nm.

Aktivita esterás v IU (jedna mezinárodní jednotka

uvolní za výše uvedených podmínek 1 μmol fluoresceinu za minutu) byla přepočítána na relativní hodnoty, kdy 100 % představuje nejvyšší naměřenou aktivitu v daném experimentu.

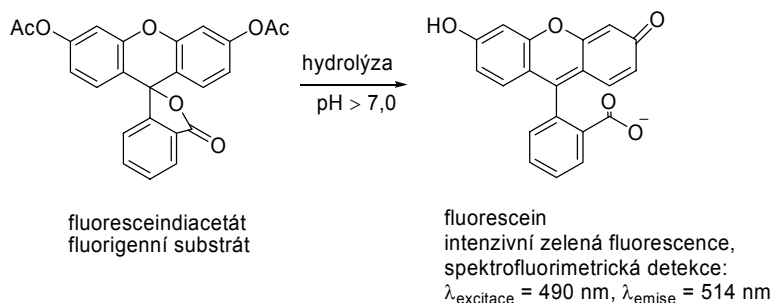
Výsledky a diskuse

Esterasy jsou enzymy vykazující nízkou substrátovou specifitu¹. V tabulce I jsou uvedeny vybrané substráty běžně využívané pro detekci esterás. V naší práci jsme jako substrát zvolili fluorescein-diacetát (FDA)^{23,24}. Fluorescein, který z FDA vzniká působením esterás (obr. 1), byl detegován spektrofotometricky. Excitační i emisní pás fluoresceinu leží ve viditelné oblasti světla (λ_{ex} 490 nm a λ_{em} 514 nm), takže bylo možné provádět detekci v běžně dostupných plastových kyvetách. Jistou nevýhodou představuje značná rychlost samovolné hydrolyzy FDA při $\text{pH} > 9,0$ (data neuvedena).

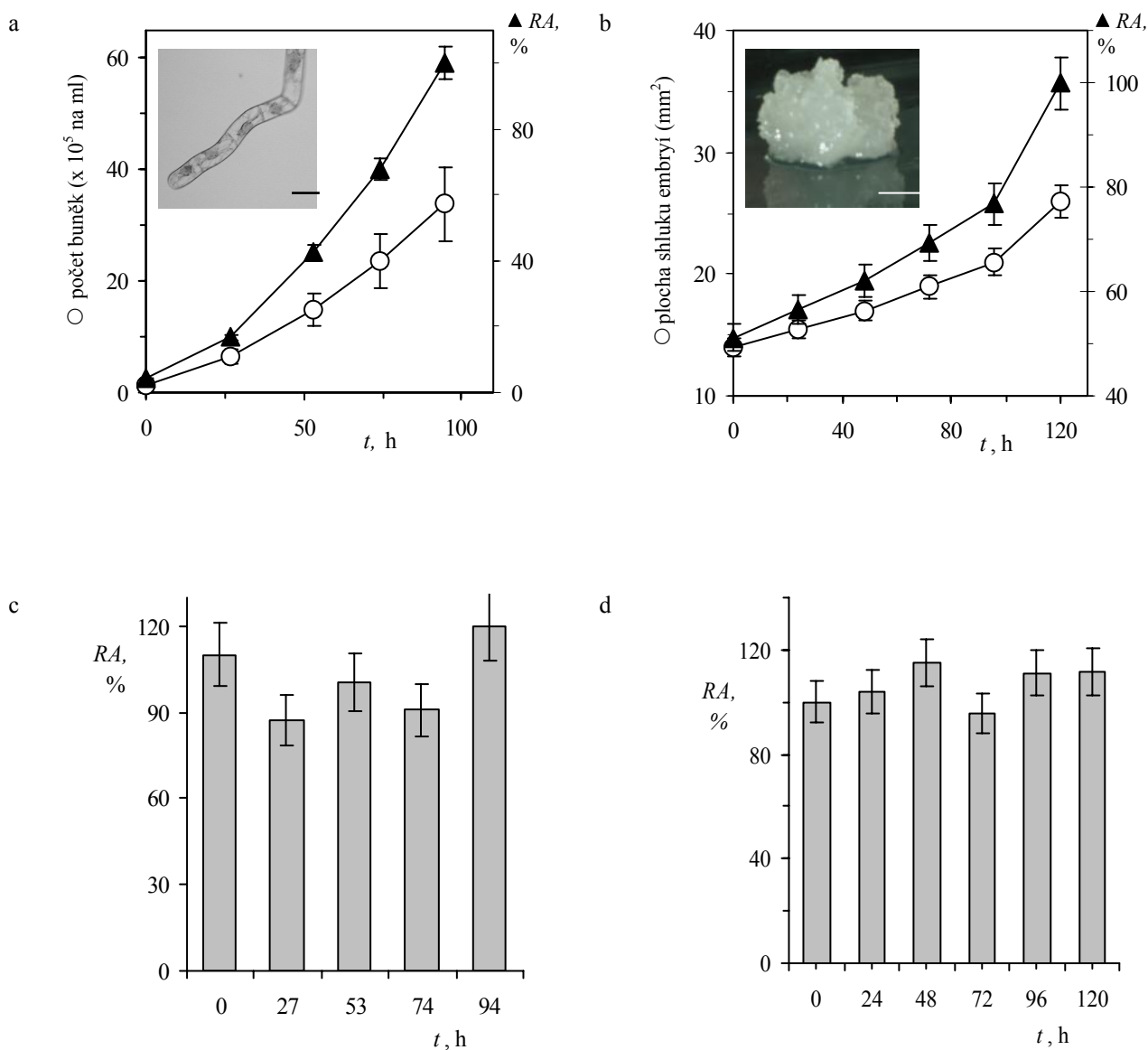
Nejdříve jsme se zabývali detekcí intracelulárních esterás v buněčné suspenzi tabáku linie BY-2, která je považována za jeden ze základních rostlinných modelů

Tabulka I
Substráty používané pro stanovení esterás

Substrát	Způsob detekce	Lit.
Ethyl-butyrát	alkalimetry	28
Estery 1- a 2-naftolu a alifatických karboxylových kyselin (C2–C4)	spektrofotometry	28,29
Estery 4-nitrofenolu a alifatických karboxylových kyselin (C2–C18)	spektrofotometry	30,31
Fluorescein-diacetát	spektrofotometry a spektrofotometry	14,15, 23
4-Methylumbelliferyl-acetát	Spektrofotometry	28



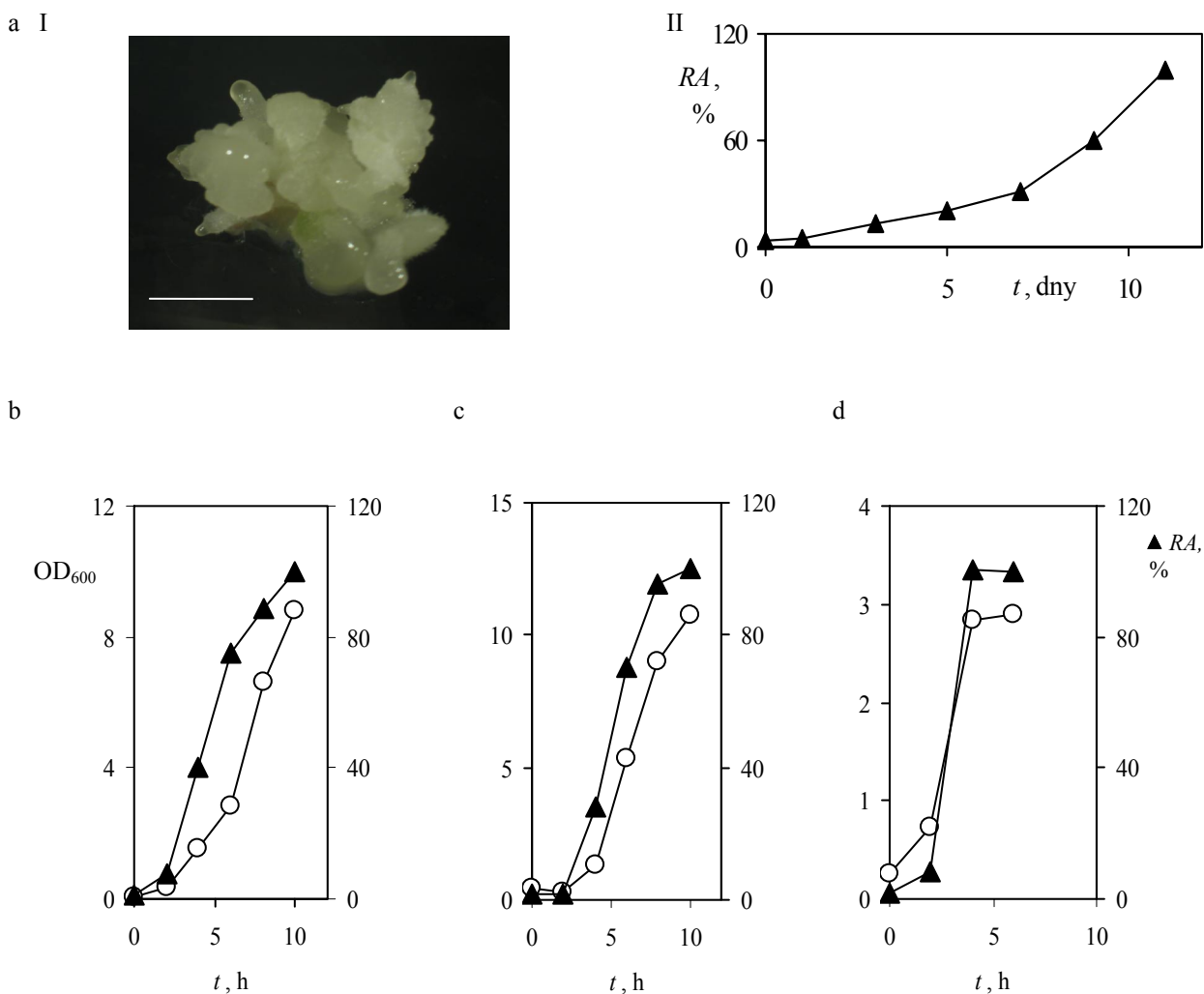
Obr. 1. Schéma reakce; fluorescein-diacetát je esterásami konvertován na fluorescein, který při $\text{pH} > 7,0$ vykazuje intenzivní fluorescenci; Ac – acetát



Obr. 2. Aktivita intracelulárních esteraz buněčné suspenze tabáku linie BY-2 a kultury raných somatických embryí smrku ztepilého (ESE); a – růstová křivka buněčné suspenze BY-2 stanovená na základě mikroskopického počítání buněk a aktivity intracelulárních esteraz. Vložený snímek ukazuje buňky BY-2. Úsečka představuje 50 μm ; b – růstová křivka kultury ESE stanovená na základě počítačové analýzy obrazu a aktivity intracelulárních esteraz. Vložený snímek ukazuje shluk ESE na mediu. Úsečka představuje 1 mm; c – aktivita intracelulárních esteraz 10^5 živých buněk BY-2 v závislosti na kultivační době; d – aktivita intracelulárních esteraz 100 ESE v závislosti na kultivační době; 100 % aktivity intracelulárních esteraz představuje: 0,002 mezinárodních jednotek (IU) na 1 ml buněčné suspenze (a), 0,0004 IU (b), $4,5 \cdot 10^{-5}$ IU (c) a $1,8 \cdot 10^{-5}$ IU (d); experimentální body představují průměrnou hodnotu třech měření \pm SD; RA – relativní aktivita intracelulárních esteraz, t – doba kultivace

vých systémů v biologii rostlin¹⁷. Morfologie BY-2 buněk je ukázána ve vloženém obrázku 2a. Aktivita intracelulárních esteraz byla stanovená v buněčném extraktu. Detekční limit stanovení esteraz s FDA jako substrátem představuje ekvivalent 800 živých buněk BY-2. Díky vysoké citlivosti

metody bylo možné použít malé množství vzorku buněčné suspenze (200 μl). Studovali jsme možnost, zda lze data získaná měřením aktivity intracelulárních esteraz využít ke konstrukci růstové křivky a nahradit tak časově náročné



Obr. 3. Aktivita intracelulárních esterás suspenze cibule a bakteriálních kultur; a – snímek kalusu (I) cibule kuchyňské (úsečka představuje 3 mm) a růstová křivka suspenze cibule stanovená na základě intracelulárních esterás (II); b – růstová křivka bakteriálních kultur *S. aureus* CCM 2022, c – růstová křivka bakteriálních kultur *S. epidermidis* CCM 4418, d – růstová křivka bakteriálních kultur *E. coli* CCM 3954 stanovená pomocí absorbance při 600 nm a intracelulárních esterás; 100 % aktivity intracelulárních esterás představuje: $5,9 \cdot 10^{-5}$ mezinárodních jednotek (IU) na 1 ml buněčné suspenze (a), $4,5 \cdot 10^{-5}$ IU (b), $8,6 \cdot 10^{-5}$ IU (c) a $7 \cdot 10^{-5}$ IU (d); RA – relativní aktivita intracelulárních esterás, t – doba kultivace

přímé počítání buněk ve Fuchsově-Rosenthalově komůrce. Ze suspenze byly v daných časech odebírány vzorky pro stanovení životaschopnosti, hustoty suspenze (počet buněk na ml suspenze) a aktivity intracelulárních esterás. Růstová křivka byla sestavena na základě počtu živých buněk (celkový počet buněk \times životaschopnost) v 1 ml suspenze a naměřených aktivit intracelulárních esterás (obr. 2a). Přímé počítání vykazuje experimentální chybu až 20 %. Naproti tomu využití intracelulárních esterás umožnilo významné snížení experimentální chyby (kolem 6 %) a získaná křivka je v dobré korelaci s přímým počítáním buněk (obr. 2a). Abychom prověřili, zda intracelulární

esterasy představují vhodný ukazatel využitelný pro konstrukci růstové křivky, byla sledována aktivita intracelulárních esterás konstantního množství živých buněk v různých časech kultivace. Obr. 2c ukazuje, že se aktivita intracelulárních esterás konstantního množství živých buněk v průběhu kultivační doby nemění. Porovnali jsme detekci živých buněk dvojím barvením FDA a PI s měřením aktivity intracelulárních esterás^{13,25–27}. V živých buňkách způsobuje FDA zelenou fluorescenci, protože je schopen proniknout do cytoplazmy, kde je následně hydrolyzován esterásami na fluoreskující fluorescein, který již není schopen difundovat cytoplazmatickou membránou

zpět. Naproti tomu červená fluorescence způsobená PI ukazuje, že buňky jsou mrtvé, protože PI je schopen proniknout pouze poškozenou cytoplazmatickou membránou. Zjistili jsme, že obě metody jsou ve velmi dobré shodě, čímž jsme ověřili, že množství aktivních esterasy je přímo úměrné hustotě živých buněk v suspenzi. Kolísání naměřených hodnot je způsobeno experimentální chybou v počítání buněk.

Na rozdíl od buněčné suspenze tabáku představuje kultura tvořená shluky ESE (viz vložený obr. 2b) na tuhém mediu značně heterogenní systém. Růstová křivka byla sestavena na základě ploch shluků ESE zjištěných počítačovou analýzou obrazu¹². Paralelně byla sledována životaschopnost buněk a aktivita intracelulárních esterasy. Životaschopnost ($90 \pm 7\%$) se v průběhu experimentu neměnila. Aktivita intracelulárních esterasy rostla souběžně s plochou shluků ESE (obr. 2b). Abychom prověřili vhodnost použití intracelulárních esterasy jako markeru pro konstrukci růstové křivky ESE, byla sledována aktivita konstantního množství ESE. Ta zůstávala v průběhu experimentu konstantní (obr. 2d).

Na dvou diametrálně odlišných, dobře experimentálně definovaných rostlinných systémech jsme prověřili, že intracelulární esterasy mohou být využity pro určení růstové křivky. Proto jsme se pokusili ověřit metodiku stanovení aktivity intracelulárních esterasy na suspenzní kultuře cibule kuchyňské (obr. 3) a u různých druhů bakterií. Nově odvozená suspenzní kultura cibule je tvořena velkými shluky buněk v kapalném mediu. Tento charakter kultury zneumožňuje mikroskopické stanovení hustoty suspenze. Námí vypracovaná metoda stanovení aktivity esterasy umožnila ze získaných experimentálních dat sestavit růstovou křivku suspenzní kultury cibule. Pozorovaná závislost jasně ukazuje exponenciální fázi růstu buněk cibule v průběhu 11denního experimentu (obr. 3a II).

Na závěr jsme testovali možnost využití intracelulárních esterasy z bakteriálních kultur. Pro tyto účely byly použity tři rozdílné druhy bakterií: *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* a *Escherichia coli*. V experimentu byl studován růst měřením OD₆₀₀ a aktivity intracelulárních esterasy. Ve všech třech případech korelovala růstová křivka stanovená na základě intracelulárních esterasy s křivkou získanou měřením OD₆₀₀. Na získaných experimentálních křivkách je velmi dobře pozorovatelná *lag*, *exponenciální* a *stacionární* fáze růstu. U bakteriálních suspenzí se pro stanovení počtu živých buněk standardně využívá kulturační metoda – část suspenze se nanese na tuhé médium a po řádově desítkách hodin se sleduje vznik kolonií bakterií²¹. Naproti tomu stanovení intracelulárních esterasy, které může kulturační metodu nahradit, vyžaduje přibližně 1 hodinu včetně přípravy vzorku.

Z výše uvedeného vyplývá, že esterasy mohou sloužit jako vhodný univerzální marker pro stanovení růstových charakteristik buněk jak eukaryotických, tak prokaryotických. Značnou výhodou představuje fakt, že se do stanovení aktivity intracelulárních esterasy promítnou pouze živé buňky, tedy takové, které přispívají k růstu kultury a event. produkují biotechnologicky významné metabolity.

U rostlinných buněčných suspenzí lze stanovením esterasy nahradit přímé počítání buněk, které je časově značně náročné a nepřesné. Esterasy lze dokonce využít i tam, kde kvůli přítomnosti velkých shluků buněk není přímé počítání možné.

Práce byla financována z dlouhodobého záměru Agronomické fakulty MZLU č. 4321 00001, FRVŠ 180/2004, GAČR č. 525/04/P132, 3/2004 IGA MZLU, IGA FaF VFU IG342012 a grantu Národního výzkumného centra LN00A081.

S e z n a m z k r a t e k a s y m b o l ů

BY-2	kultura tabáku (linie Bright Yellow 2)
FDA	fluorescein-diacetát
PI	propidium-jodid
IU	mezinárodní jednotka
ESE	raná somatická embrya smrku ztepilého
OD ₆₀₀	absorbance při 600 nm

LITERATURA

- Bornscheuer U. T.: FEMS Microbiol. Rev. 26, 73 (2002).
- Willats W. G. T., Orfila C., Limberg G., Buchholt H. C., van Alebeek G.-J. W. M., Voragen A. G. J., Marcus S. E., Christensen T. M. I. E., Mikkelsen J. D., Murray B. S., Knox J. P.: J. Biol. Chem. 276, 19404 (2001).
- Sandermann H.: Trends Biochem. Sci. 17, 82 (1992).
- Cummins I., Burnet M., Edwards R.: Physiol. Plant. 113, 477 (2001).
- Stuhlfelder C., Lottspeich F., Mueller M. J.: Phytochemistry 60, 233 (2002).
- Kizek R., Vacek J., Trnkova L., Klejdus B., Kuban V.: Chem. Listy 97, 1003 (2003).
- Kizek R., Vacek J., Trnková L., Klejdus B., Havel L.: Chem. Listy 98, 166 (2004).
- Zehnálek J., Adam V., Kizek R.: Listy Cukrov. 120, 222 (2004).
- Vacek J., Petrek J., Kizek R., Havel L., Klejdus B., Trnkova L., Jelen F.: Bioelectrochemistry 63, 347 (2004).
- Zehnálek J., Vacek J., Kizek R.: Listy Cukrov. 120, 220 (2004).
- Jones K. H., Senft J. A.: J. Histochem. Cytochem. 33, 77 (1985).
- Petrek J., Vitecek J., Vlasinova H., Kizek R., Kramer K. J., Adam V., Klejdus B., Havel L.: Anal. Bioanal. Chem., odesláno, (2005).
- Vitecek J., Adam V., Petrek J., Vacek J., Kizek R., Havel L.: Plant Cell, Tissue Organ. Cult. 79, 195 (2004).
- Amano T., Hirasawa K., O'Donohue M. J., Pernolle J., Schioi Y.: Anal. Biochem. 314, 1 (2003).

15. Steward N., Martin R., Engasser J. M., Goergen J. L.: *Plant Cell Rep.* 19, 171 (1999).
16. Murashige T., Skoog F.: *Physiol. Plant.* 15, 473 (1962).
17. Nagata T., Nemoto Y., Hasezawa S.: *Int. Rev. Cytol.* 132, 1 (1992).
18. von Arnold S. J.: *Plant Physiol.* 127, 233 (1987).
19. Havel L., Durzan D. J.: *Int. J. Plant Sci.* 157, 8 (1996).
20. Strouhal M., Kizek R., Vacek J., Trnková L., Němec M.: *Bioelectrochemistry* 60, 29 (2003).
21. Billova S., Kizek R., Jelen F., Novotna P.: *Anal. Bioanal. Chem.* 377, 362 (2003).
22. Mlejnek P., Prochazka S.: *Planta* 215, 158 (2002).
23. Guilbault G. G., Kramer D. N.: *Anal. Chem.* 36, 409 (1964).
24. www.molecularprobes.com, staženo 20.1.2004.
25. Viteček J., Kizek R., Petřek J., Vacek J., Havel L.: *MendelNET*, 47 (2003).
26. Viteček J., Kizek R., Petřek J., Vacek J., Havel L.: *5th International Symposium in the Series Recent Advances in Plant Biotechnology*, 1, 159 (2003).
27. Viteček J., Kizek R., Petřek J., Havel L.: *3. Metodické dny*, 73 (2003).
28. www.sigmaaldrich.com, staženo 8.12.2004.
29. Aldridge W. N.: *Biochem. J.* 53, 110 (1953).
30. Gilot P., Andre P.: *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 1661 (1995).
31. Choi Y.-J., Lee B. H.: *Bioproc. Biosyst. Eng.* 24, 59 (2001).

J. Viteček, V. Adam, J. Petřek, P. Babula, P. Novotná, R. Kizek, and L. Havel (*Department of Plant Biology and Department of Chemistry and Biochemistry, Mendel University of Agriculture and Forestry, Brno*): **Application of Fluorimetric Determination of Esterases in Plant Material**

Esterases show a great potential in plant biotechnology. In this article we report a simple method for assessment of their activity using fluorescein diacetate. The method was applied to cell suspension cultures of tobacco BY-2 line, a culture of early somatic embryos of Norway spruce on a semisolid medium and to a suspension culture of onion. We demonstrated that the intracellular esterases can be used for construction of growth curves of the above mentioned cultures. In addition, we tested the method on suspension cultures of onion and bacteria.

40. konference

POKROKY V ORGANICKÉ, BIOORGANICKÉ A FARMACEUTICKÉ CHEMII – „LIBLICE 2005“

Sportovní Centrum Nymburk, 18.–20. listopadu 2005

Vážení kolegové,

Odborná skupina organické, bioorganické a farmaceutické chemie České společnosti chemické si Vás dovoluje pozvat na tradiční fórum českých a slovenských chemiků. Vedle zvaných hlavních přednášek (40+5 min) a (25+5 min) budou tvořit náplň konference krátká původní sdělení (10+5 min) a postery (0,85 × 0,85 m). Tématika těchto příspěvků nemusí navazovat na výše uvedené referáty. Vítána jsou sdělení z oblastí, které leží na hranici okruhu témat vytčených názvem konference. Podrobnosti a formuláře naleznete na webové stránce naší odborné skupiny, <http://uoch.vscht.cz/orbifachos/>. **Uzávěrka přihlášek a abstraktů je 5. září 2005.** V případě, že nemáte přístup k e-mailu nebo budete potřebovat další informace, kontaktujte, prosím, organizátory konference, prof. Pavla Drašara, tel. 220 444 283, fax 233 339 990, e-mail Pavel.Drasar@vscht.cz, nebo doc. Jaroslava Kvíčalu, tel. 220 444 242, fax 220 444 278, e-mail kvicalaj@vscht.cz.

MODIFIKACE STANDARDIZOVANÉ EVROPSKÉ METODY POSTUPNÉ EXTRAKCE PŮDY PRO HODNOCENÍ PODÍLŮ VYBRANÝCH PRVKŮ PŘIJATELNÝCH ROSTLINOU

JIŘINA SZÁKOVÁ, PAVEL TLUSTOŠ,
DANIELA PAVLÍKOVÁ a JIŘÍ BALÍK

*Katedra agrochemie a výživy rostlin, Česká zemědělská univerzita, 165 21 Praha 6 – Suchdol
szakova@af.czu.cz*

Došlo 31.7.03, přepracováno 26.3.04, přijato 2.4.04.

Klíčová slova: postupná extrakce, půda, slabá extrakční činidla, rostlinou přijatelný obsah, As, Cd, Cu, Pb, Zn

Úvod

Metody následné (sekvenční) extrakce vzorků půdy se velmi osvědčují při studiu pohybu esenciálních i toxických prvků v půdě a jejich schopnosti přecházet z půdy do rostlin, kdy je možno přesně definovanými postupy stanovit podíly prvků vázané na jednotlivé složky půdy a tím i odhadnout mobilitu či mobilizovatelnost těchto prvků. Metoda postupné extrakce navržená pod záštitou Evropské komise organizací Standard Measurement and Testing Programme (SM&T) a označená EUR 14763 EN (cit.¹) je metodou kompromisní, která byla připravena s cílem sjednotit a maximálně zjednodušit postupy používané v rámci Evropské unie. Z tohoto důvodu podává jen základní informaci o frakcionaci jednotlivých prvků a pro podrobné studium vazeb prvků v půdě se zdá být nedostačující. To se ukazuje zejména u frakce označené dle metodiky jako výměnná, která ve skutečnosti zahrnuje i frakci vázanou na karbonáty. Pro stanovení obsahů prvků přijatelných rostlinou existuje celá řada extrakčních postupů. Výsledky ukazují, že použití deionizované vody a neutrálních solí vede přes některé odlišnosti k vzájemně porovnatelným výsledkům jak ve vlastní extrahovatelnosti jednotlivých prvků, tak i při další interpretaci dat. Tato činidla jsou schopna uvolnit pouze slabě vázané, rostlinám snadno přístupné podíly půdních elementů^{1–3}. Z našeho srovnání extrahovatelnosti As, Cd a Zn na 35 vzorcích půd rozdílných fyzikálně-chemických vlastností⁴ vyplynulo, že u arsenu a zinku nepřesáhly vyluhovatelné obsahy prvků 0,5 % jejich celkového obsahu v půdě, ale byly pozorovány rozdíly v jejich účinnosti. U arsenu se účinnost extrakce zvyšovala v pořadí $1 \text{ mol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3 < 0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ NaNO}_3 < 0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ CaCl}_2 < \text{H}_2\text{O}$ a potvrdilo se, že vyšší iontová síla použitého vyluhovadla snižuje uvolnitelnost slabě vázaných forem tohoto prvku. Je také třeba mít na zřeteli,

že většina běžně používaných činidel byla vyvinuta pro extrakci prvků vázaných v půdě ve formě dvojjazyčných kationtů a nemusí být vždy aplikovatelná pro prvky tvořící jiné typy vazeb. Obsah zinku v extraktu se zvyšoval v pořadí $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ NaNO}_3 \leq \text{H}_2\text{O} < 1 \text{ mol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3 < 0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ CaCl}_2$. V případě kadmia kopíruje pořadí extraktantů řadu sestavenou pro zinek, ale extrahovatelnost tohoto prvku byla významně vyšší ve srovnání se zinkem. Rovněž rozpětí hodnot pro jednotlivé vzorky bylo významně širší, přičemž v některých případech se obsahy Cd extrahovatelné chloridem vápenatým blížily 50 % celkového obsahu prvku. Právě $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ CaCl}_2$ je považován za vhodný extraktant pro odhad koncentrací Cd a Zn v půdním roztoku^{5,6}.

V našem nádobovém vegetačním experimentu jsme sledovali extrahovatelnost vybraných rizikových prvků $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ roztokem CaCl_2 a $0,11 \text{ mol l}^{-1}$ roztokem CH_3COOH , což je první stupeň metody postupné extrakce půdy SM&T EUR 14763 EN, který poskytuje výměnnou frakci a vztah obsahu těchto prvků v pokusných rostlinách a v půdních extraktech.

Materiál a metody

V experimentu byla použita černozem z lokality Suchdol charakterizovaná hodnotou pH 7,2, 2,3 % oxidovatelného uhlíku a kationtovou výměnnou kapacitou 255 mmol kg^{-1} , kdy do jednotlivých pokusných variant byl přidáván čistírenský kal nebo roztok anorganických solí sledovaných prvků. Kal byl přidáván v dávce 50 g sušiny kalu na nádobu obsahující 5 kg pokusné půdy. Toto množství kalu představovalo 0,355 mg As, 0,188 mg Cd, 16,3 mg Cu, 2,74 mg Pb a 55,2 mg Zn. Roztoky anorganických solí prvků byly přidány ve dvou variantách, kdy první představovala totéž množství prvků, které bylo přidáno ve formě kalu, druhá varianta pak desetinasobek tohoto množství. Celkové obsahy prvků v jednotlivých pokusných variantách se pak pohybovaly v rozmezí 17,9–18,7 mg As kg^{-1} , 0,489–0,869 mg Cd kg^{-1} , 24,5–57,1 mg Cu kg^{-1} , 31,3–36,8 mg Pb kg^{-1} a 87,1–198 mg Zn kg^{-1} . V druhém vegetačním období se pak přídavek kalu ani roztoku solí neopakoval. V nádobách byly pěstovány ředkvičky a špenát ve dvou následujících vegetačních obdobích, přičemž v druhém vegetačním období následovaly ředkvičky v nádobách po špenátu a naopak. Vzorky půdy byly odebrány vždy po sklizni, vysušeny na vzduchu, zhomogenizovány, přesety a analyzovány.

Vzorky půdy byly extrahovány následujícími činidly: $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ CaCl}_2$ v poměru 1 : 10 (navážka/objem) při teplotě místnosti⁵; $0,11 \text{ mol l}^{-1} \text{ CH}_3\text{COOH}$ v poměru 1 : 40 navážka/objem¹. Reakční směs byla mechanicky protřepávána po dobu 6, resp. 5 h a poté centrifugována po dobu 10 min při 3000 otáčkách min^{-1} (Hettich Universal 30 RF). Extrakty byly uloženy v chladničce ve zkumavkách při teplotě 6 °C až do doby měření. Vzorky rostlinného materiálu byly rozloženy na suché cestě následovně: 1 g vzorku

bylo naváženo přesností na 1 mg do nádoby z borosilikátového skla a rozloženo se ve směsi oxidačních plynů ($O_2 + O_3 + NO_x$) při teplotě 400 °C po dobu 10 h v mineralizátoru Apion (Tessek, ČR)⁷. Popel byl rozpuštěn ve 20 ml 1,5% HNO_3 a mineralizáty byly uloženy ve zkumavkách při laboratorní teplotě až do doby měření. Pro kontrolu správnosti analýz byly využity certifikované referenční materiály RM 12-02-03 Lucerne a BCR 281 Rye Grass.

Obsah prvků v připravených roztocích byl stanoven atomovou absorpční spektrometrií na přístrojích Varian SpectrAA-300 a Varian SpectrAA-400. Obsah arsenu byl stanoven technikou generace hydridů s využitím kontinuálního generátoru hydridů VGA-76, pro stanovení Cd, Cu a Pb pak byl použit grafitový bezplamenový atomizátor

GTA-96 a Zn byl atomizován v plameni acetylen-vzduch. Pro vyhodnocení signálu bylo použito metody přidavku standardu. Analytická data byla vyhodnocena Kruskalovým-Wallisovým testem a lineární regresní analýzou s použitím programového vybavení Statgraphics 5 plus.

Výsledky a diskuse

Rozdíly v obsazích jednotlivých prvků v kalu se odrazily v rozdílném přírůstku celkového obsahu jednotlivých prvků v nádobách, kdy k největší změně došlo u kadmia a zinku, zatímco u arsenu a olova šlo o změny jen nevýznamné. Vliv přidavku rizikových prvků do půdy ve formě

Tabulka I

Obsah arsenu extrahovatelného jednotlivými činidly z půdy ($mg\ kg^{-1}$), jeho relativní podíl na celkovém obsahu tohoto prvku (%) a celkový obsah arsenu v pokusných rostlinách ($mg\ kg^{-1}$)

Varianta	Obsah As extrahovatelný činidlem				Celkový obsah As v rostlinách [$mg\ kg^{-1}$]	
	0,01 mol l^{-1} $CaCl_2$		0,11 mol l^{-1} CH_3COOH		ředkvičky kořen a bulva	ředkvičky nadzemní část
	[$mg\ kg^{-1}$]	[%]	[$mg\ kg^{-1}$]	[%]		
<i>1. vegetační období</i>						
1	0,153 ^a	0,848 ^a	1,55 ^a	8,59 ^a	0,556	0,742
2	0,142 ^a	0,784 ^a	1,89 ^a	10,5 ^a	0,555	0,686
3	0,203 ^b	1,08 ^b	2,16 ^a	11,5 ^a	0,792	0,865
4	0,186 ^b	1,04 ^b	1,65 ^a	9,23 ^a	0,551	0,435
<i>2. vegetační období</i>						
1	0,127 ^a	0,705 ^a	2,52 ^a	14,0 ^a	0,257	0,521
2	0,119 ^a	0,659 ^a	2,59 ^a	14,3 ^a	0,267	0,608
3	0,171 ^a	0,913 ^a	2,94 ^a	15,7 ^a	0,313	0,672
4	0,103 ^a	0,573 ^a	2,57 ^a	14,3 ^a	0,289	0,420
<i>Varianta</i>					<i>špenát kořen</i>	
<i>1. vegetační období</i>						
1	0,181 ^b	1,01 ^a	1,68 ^a	9,31 ^a	0,514	0,195
2	0,159 ^b	0,877 ^a	1,90 ^a	10,5 ^{a,b}	0,606	0,161
3	0,174 ^b	0,927 ^a	2,19 ^b	11,7 ^c	0,682	0,140
4	0,101 ^a	0,566 ^a	1,92 ^a	10,7 ^a	0,548	0,110
<i>2. vegetační období</i>						
1	0,092 ^a	0,514 ^a	2,62 ^a	14,5 ^a	0,726	0,276
2	0,113 ^a	0,623 ^a	2,71 ^b	15,0 ^a	1,19	0,355
3	0,129 ^a	0,689 ^a	3,03 ^c	16,2 ^a	1,36	0,300
4	0,159 ^a	0,887 ^a	2,71 ^{a,b}	15,2 ^a	1,66	0,306

^{a,b,c,d} Varianty označené stejnými písmeny se od sebe statisticky významně neliší na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Varianta 1 – kontrola, varianta 2 – prvky přidány ve formě roztoku solí v koncentraci srovnatelné s kalem, varianta 3 – desetinásobně zvýšený přírůstek solí, varianta 4 – kal

Tabulka II

Obsah kadmia extrahovatelného jednotlivými činidly z půdy (mg kg^{-1}), jeho relativní podíl na celkovém obsahu tohoto prvku (%) a celkový obsah kadmia v pokusných rostlinách (mg kg^{-1})

Varianta	Obsah Cd extrahovatelný činidlem				Celkový obsah Cd v rostlinách	
	0,01 mol l^{-1} CaCl_2		0,11 mol l^{-1} CH_3COOH		[mg kg^{-1}]	
	[mg kg^{-1}]	[%]	[mg kg^{-1}]	[%]	ředkvičky kořen a bulva	ředkvičky nadzemní část
<i>1. vegetační období</i>						
1	0,004 ^b	0,775 ^a	0,015 ^a	3,03 ^a	0,265	1,14
2	0,002 ^a	0,414 ^a	0,045 ^b	8,52 ^b	0,201	0,890
3	0,011 ^c	1,29 ^a	0,131 ^c	15,0 ^c	0,194	1,10
4	0,006 ^b	1,19 ^a	0,035 ^b	6,73 ^b	0,250	0,755
<i>2. vegetační období</i>						
1	0,004 ^a	0,846 ^a	0,031 ^a	6,37 ^a	0,312	1,43
2	0,002 ^a	0,359 ^a	0,037 ^a	7,08 ^a	0,205	0,959
3	0,007 ^b	0,846 ^a	0,128 ^b	14,8 ^b	0,391	2,01
4	0,004 ^a	0,727 ^a	0,035 ^a	6,75 ^a	0,328	1,19
<i>Varianta</i>					<i>špenát kořen</i>	<i>špenát nadzemní část</i>
<i>1. vegetační období</i>						
1	0,006 ^a	1,14 ^a	0,018 ^b	3,67 ^b	0,271	0,761
2	0,004 ^a	0,764 ^a	0,019 ^b	3,67 ^b	0,268	0,641
3	0,011 ^b	1,30 ^a	0,115 ^c	13,3 ^c	0,454	0,959
4	0,004 ^a	0,818 ^a	0,016 ^a	3,13 ^a	0,407	0,603
<i>2. vegetační období</i>						
1	0,004 ^b	0,896 ^a	0,032 ^a	6,45 ^a	0,595	0,995
2	0,003 ^a	0,558 ^a	0,040 ^a	7,51 ^b	0,699	1,05
3	0,007 ^c	0,761 ^a	0,119 ^b	13,7 ^c	0,602	0,986
4	0,004 ^{a,b}	0,761 ^a	0,039 ^a	7,45 ^a	0,586	0,965

^{a,b,c,d} Varianty označené stejnými písmeny se od sebe statisticky významně neliší na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Varianta 1 – kontrola, varianta 2 – prvky přidány ve formě roztoku solí v koncentraci srovnatelné s kalem, varianta 3 – desetinásobně zvýšený přírůstek solí, varianta 4 – kal

roztoků anorganických solí i ve formě čistírenského kalu na mobilitu prvků a jejich zastoupení v základních půdních frakcích byl již dříve podrobně diskutován^{8,9}. V této práci jsme se pouze pokusili zhodnotit, do jaké míry může půdní extrakt reprezentovat rostlinou přijatelné podíly jednotlivých prvků.

Extrahovatelné obsahy prvků v půdách a celkové obsahy prvků v rostlinách jsou shrnuty v tabulkách I–V. Po prvním vegetačním období se projevil rozdíl v chování jednotlivých elementů dané jejich rozdílnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi, přičemž statisticky významně se projevil zejména přírůstek anorganických solí prvků v dávce desetinásobně ve srovnání s kalem. Obsah arsenu v půdě se přírůstkem kalu nezměnil, protože obsah tohoto prvku v čistírenských kalech je zpravidla

velmi nízký. Přírůstek roztoku anorganických solí arsenu a mědi se projevil zejména ve výměnné frakci, v podílech těchto prvků extrahovatelných 0,01 mol l^{-1} CaCl_2 se jednoznačný trend v případné změně mezi jednotlivými pokusnými variantami u obou prvků neprojevil. U olova pak byl zaznamenán podobně nejednoznačný výsledek i u výměnné frakce. Velmi dobře bylo možno hodnotit změny podílů jednotlivých prvků u obou činidel u kadmia a zinku, což je způsobeno jednak vyšší mobilitou těchto prvků a jednak faktem, že vzhledem k vysokému obsahu kadmia a zinku v použitém kalu byl i přírůstek těchto prvků relativně nejvyšší.

Po druhém vegetačním období jsme zaznamenali významné posuny v zastoupení prvků extrahovatelných oběma použitými činidly u všech variant včetně kontrolní.

Tabulka III

Obsah mědi extrahovatelné jednotlivými činidly z půdy (mg kg^{-1}), jeho relativní podíl na celkovém obsahu tohoto prvku (%) a celkový obsah mědi v pokusných rostlinách (mg kg^{-1})

Varianta	Obsah Cu extrahovatelný činidlem				Celkový obsah Cu v rostlinách	
	0,01 mol l^{-1} CaCl_2		0,11 mol l^{-1} CH_3COOH		[mg kg^{-1}]	
	[mg kg^{-1}]	[%]	[mg kg^{-1}]	[%]	ředkvičky kořen a bulva	ředkvičky nadzemní část
<i>1. vegetační období</i>						
1	0,159 ^c	0,649 ^c	0,029 ^a	0,117 ^a	4,02	6,37
2	0,110 ^b	0,396 ^b	0,212 ^b	0,763 ^c	3,29	4,99
3	0,159 ^c	0,279 ^a	0,773 ^d	1,35 ^d	3,31	5,75
4	0,096 ^a	0,350 ^a	0,141 ^c	0,512 ^b	2,78	5,55
<i>2. vegetační období</i>						
1	0,072 ^{a,b}	0,295 ^a	0,117 ^a	0,478 ^a	4,30	3,14
2	0,060 ^a	0,217 ^a	0,145 ^a	0,521 ^a	3,80	4,77
3	0,146 ^b	0,255 ^a	0,929 ^b	1,63 ^b	4,79	5,53
4	0,088 ^b	0,319 ^a	0,135 ^a	0,490 ^a	3,58	3,75
<i>Varianta</i>					<i>špenát kořen</i>	<i>špenát nadzemní část</i>
<i>1. vegetační období</i>						
1	0,327 ^b	1,33 ^c	0,05 ^a	0,223 ^a	9,29	19,2
2	0,178 ^a	0,643 ^b	0,05 ^a	0,183 ^a	7,02	37,5
3	0,262 ^b	0,458 ^a	2,00 ^b	3,51 ^b	10,3	46,0
4	0,184 ^a	0,671 ^b	0,14 ^a	0,505 ^a	15,0	27,7
<i>2. vegetační období</i>						
1	0,110 ^a	0,450 ^a	0,13 ^a	0,541 ^{a,b}	6,52	9,41
2	0,092 ^a	0,333 ^a	0,19 ^a	0,671 ^b	7,93	8,58
3	0,160 ^b	0,280 ^a	0,68 ^b	1,18 ^c	10,5	10,4
4	0,074 ^a	0,270 ^a	0,13 ^a	0,484 ^a	9,43	9,93

^{a,b,c,d} Varianty označené stejnými písmeny se od sebe statisticky významně neliší na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Varianta 1 – kontrola, varianta 2 – prvky přidány ve formě roztoku solí v koncentraci srovnatelné s kalem, varianta 3 – desetinasobně zvýšený přírůstek solí, varianta 4 – kal

Porovnáním variant dospějeme u jednotlivých prvků ke srovnatelným závěrům jako po prvním vegetačním období. Je nutno mít na paměti možné změny mezi jednotlivými vegetačními obdobími. Během sušení vzorku a jeho skladování se pravděpodobně mění složení zejména organické hmoty půdy, zvláště jsou-li vzorky sušeny na vzduchu a skladovány při laboratorní teplotě¹⁰. Nelze opominout ani možný vliv kořenových exsudátů rostlin v oblasti rhi-zosféry, které mohou významně ovlivnit mobilitu sledovaných prvků¹¹. Tyto aspekty budou vyžadovat podrobnější zkoumání. Lze však shrnout, že v průběhu dvou vegetačních období byly zaznamenány významné posuny v zastoupení sledovaných prvků v základních půdních frakcích, přírůstek čistírenského kalu měl však menší vliv ve srovnání s přírůstkem roztoků anorganických solí prvků⁹.

Kumulace prvků sledovanými částmi pokusných rostlin se lišila podle jednotlivých prvků, podle druhu rostliny i podle analyzované části této rostliny. Zatímco u ředkvičky byly u všech prvků zjištěny vyšší obsahy v nadzemní části ve srovnání s bulvou a kořenem, u špenátu tomu bylo v případě arsenu a olova naopak. Odezva rostlin na přírůstek jednotlivých prvků pak byla výraznější u ředkvičky ve srovnání se špenátem, a to zejména v prvním vegetačním období a v nadzemní části ve srovnání s kořenem. Výjimkou v tomto případě byla měď, kde se desetinasobný přírůstek tohoto prvku do půdy projevil zejména u špenátu.

Výsledky regresní analýzy vzájemného vztahu extrahovatelných obsahů prvků v půdě a celkových obsahů těchto prvků v rostlinách pak plně korespondují s předcházejícím odstavcem. Vzhledem k tomu, že odezva pokusných rostlin na přírůstek jednotlivých prvků nebyla

Tabulka IV

Obsah olova extrahovatelného jednotlivými činidly z půdy (mg kg^{-1}), jeho relativní podíl na celkovém obsahu tohoto prvku (%) a celkový obsah olova v pokusných rostlinách (mg kg^{-1})

Varianta	Obsah Pd extrahovatelný činidlem				Celkový obsah Pd v rostlinách	
	0,01 mol l^{-1} CaCl_2		0,11 mol l^{-1} CH_3COOH		[mg kg^{-1}]	
	[mg kg^{-1}]	[%]	[mg kg^{-1}]	[%]	ředkvičky kořen a bulva	ředkvičky nadzemní část
<i>1. vegetační období</i>						
1	0,064 ^a	0,203 ^a	0,080 ^a	0,255 ^a	0,497	1,10
2	0,074 ^{a,b}	0,232 ^a	0,103 ^a	0,324 ^a	0,841	0,990
3	0,130 ^b	0,354 ^a	0,115 ^a	0,312 ^a	0,491	0,985
4	0,178 ^b	0,564 ^a	0,069 ^a	0,219 ^a	0,606	0,744
<i>2. vegetační období</i>						
1	0,032 ^a	0,103 ^a	0,123 ^c	0,394 ^d	0,111	0,457
2	0,036 ^a	0,112 ^a	0,040 ^a	0,126 ^a	0,133	0,513
3	0,035 ^a	0,096 ^a	0,109 ^c	0,297 ^c	0,107	0,567
4	0,032 ^a	0,101 ^a	0,077 ^b	0,244 ^b	0,178	0,486
<i>Varianta</i>						
					<i>špenát</i>	<i>špenát</i>
					<i>kořen</i>	<i>nadzemní část</i>
<i>1. vegetační období</i>						
1	0,075 ^a	0,239 ^a	0,033 ^a	0,104 ^a	1,00	0,909
2	0,040 ^a	0,127 ^a	0,009 ^a	0,028 ^a	0,855	0,896
3	0,124 ^b	0,338 ^b	0,040 ^a	0,108 ^a	0,934	0,804
4	0,065 ^a	0,205 ^a	0,028 ^a	0,088 ^a	0,880	1,07
<i>2. vegetační období</i>						
1	0,035 ^a	0,111 ^a	0,039 ^a	0,124 ^a	0,442	0,449
2	0,035 ^a	0,111 ^a	0,050 ^a	0,157 ^a	0,683	0,381
3	0,031 ^a	0,086 ^a	0,107 ^b	0,290 ^b	0,770	0,246
4	0,033 ^a	0,105 ^a	0,093 ^b	0,294 ^b	0,703	0,305

^{a,b,c,d} Varianty označené stejnými písmeny se od sebe statisticky významně neliší na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Varianta 1 – kontrola, varianta 2 – prvky přidány ve formě roztoku solí v koncentraci srovnatelné s kalem, varianta 3 – desetinásobně zvýšený přírůstek solí, varianta 4 – kal

jednoznačná ani v případech, kdy obě použítá extrakční činidla zaznamenala rozdíl v mobilitě prvků v jednotlivých pokusných variantách, neukazují výsledky regresní analýzy jednoznačný výsledek. 0,01 mol l^{-1} CaCl_2 se ukázal jako výhodnější extraktant u prvků, u kterých přírůstek způsobil jen malou změnu jejich obsahů, a to zejména u ředkvičky, jak je vidět u arsenu a mědi (zde však pouze u nadzemní části rostlin); u olova pak byl zaznamenán stejný trend i u špenátu. U kadmia a zinku byla pozorována těsná závislost pouze u výměnného podílu prvků a to u ředkviček i špenátu. U 0,01 mol l^{-1} CaCl_2 by se mohl nepříznivě projevit odběr rostlinou přijatelného podílu prvků během vegetace, nebo zpracování vzorků po sklizni rostlin a jejich příprava k analýze. Zdá se tedy, že pro hodnocení přijatelnosti potenciálně rizikových prvků rostlina-

mi z půd s přirozeným obsahem těchto prvků bez experimentální modifikace tohoto obsahu má použití 0,01 mol l^{-1} CaCl_2 jako prvního stupně metody postupné extrakce půdy své opodstatnění. Významný vliv však bude mít i druh zkoumané rostliny a zejména aktivita kořenového systému a jeho interakce s půdou, která ho bezprostředně obklopuje, tedy rhizosféra.

Zdá se, že procesy v oblasti rhizosféry rozhodujícím způsobem ovlivňují příjem jednotlivých prvků rostlinami, přičemž velký význam bude mít bezprostřední sledování těchto procesů v průběhu vegetace, kdy pokusná půda není ovlivněna přípravou vzorku a jeho skladováním před vlastní analýzou. Pro tento případ byly popsány metody přímého odběru půdního roztoku, který umožňuje nejen stanovení prvků, ale i organických sloučenin obsažených v koře-

Tabulka V

Obsah zinku extrahovatelného jednotlivými činidly z půdy (mg kg^{-1}), jeho relativní podíl na celkovém obsahu tohoto prvku (%) a celkový obsah zinku v pokusných rostlinách (mg kg^{-1})

Varianta	Obsah Zn extrahovatelný činidlem				Celkový obsah Zn v rostlinách	
	0,01 mol l^{-1} CaCl_2		0,11 mol l^{-1} CH_3COOH		[mg kg^{-1}]	
	[mg kg^{-1}]	[%]	[mg kg^{-1}]	[%]	ředkvičky kořen a bulva	ředkvičky nadzemní část
<i>1. vegetační období</i>						
1	0,128 ^a	0,147 ^a	2,16 ^a	2,48 ^a	40,4	84,1
2	0,740 ^b	0,754 ^b	5,25 ^b	5,35 ^b	39,6	93,8
3	1,15 ^b	0,583 ^a	48,9 ^c	24,8 ^c	53,9	141
4	1,23 ^b	1,27 ^b	3,82 ^a	3,93 ^a	33,6	53,6
<i>2. vegetační období</i>						
1	0,136 ^{a,b}	0,157 ^a	1,19 ^a	1,36 ^a	35,6	47,9
2	0,119 ^a	0,121 ^a	2,97 ^b	3,03 ^c	37,6	59,4
3	0,271 ^c	0,137 ^a	39,2 ^c	19,8 ^d	58,4	146
4	0,184 ^b	0,189 ^a	2,14 ^a	2,20 ^b	40,9	57,4
<i>Varianta</i>					<i>špenát kořen</i>	<i>špenát nadzemní část</i>
<i>1. vegetační období</i>						
1	1,51 ^b	1,74 ^a	3,84 ^a	4,40 ^a	35,6	71,3
2	0,784 ^b	0,799 ^a	6,01 ^b	6,12 ^b	45,6	95,6
3	1,78 ^b	0,903 ^a	57,4 ^c	29,1 ^c	112	210
4	0,344 ^a	0,354 ^a	4,58 ^a	4,71 ^a	135	81,2
<i>2. vegetační období</i>						
1	0,140 ^a	0,160 ^a	0,979 ^a	1,12 ^a	76,4	106
2	0,157 ^a	0,160 ^a	3,75 ^b	3,82 ^c	92,1	146
3	0,278 ^a	0,141 ^a	38,8 ^c	19,7 ^d	152	202
4	0,149 ^a	0,154 ^a	2,16 ^b	2,22 ^b	82,1	110

^{a,b,c,d} Varianty označené stejnými písmeny se od sebe statisticky významně neliší na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Varianta 1 – kontrola, varianta 2 – prvky přidány ve formě roztoku solí v koncentraci srovnatelné s kalem, varianta 3 – desetinasobně zvýšený přírůstek solí, varianta 4 – kal

novém exsudátu^{12,13}. Jako velmi perspektivní se jeví využití techniky DGT (difuzní gradienty v tenké vrstvě), která spočívá v prekoncentraci sledovaných prvků z půdního roztoku na speciálně konstruovaných gelech¹⁴. Tato metoda umožňuje sledovat i dynamiku adsorpce a desorpce prvků mezi půdním roztokem a tuhou fází půdy¹⁵. Zdá se, že pouze kombinace a vzájemné srovnání technik extrakce půdy a analýzy půdního roztoku povede k přesné a exaktní charakterizaci procesů v rhizosféře za přesně definovaných podmínek.

LITERATURA

1. Ure A., Quevauviller P., Muntau H., Griepink B.: Int. J. Environ. Anal. Chem. 51, 135 (1993).
2. Beckett P. H. T.: Adv. Soil Sci. 9, 143 (1989).
3. Tlustoš P.: *Habilitační práce*. ČZU, Praha 1999.
4. Száková J., Tlustoš P., Balík J., Pavlíková D., Balíková M.: Chem. Listy 95, 179 (2001).
5. Novozamsky J., Lexmond T., M. Houba V. J. G.: Int. J. Environ. Anal. Chem. 51, 47 (1993).
6. Degryse F., Broos K., Smolders E., Merckx R.: Eur. J. Soil Sci. 54, 149 (2003).
7. Miholová D., Mader P., Száková J., Slámová A., Svatoš Z.: Fresenius' J. Anal. Chem. 345, 256 (1993).
8. Száková J., Tlustoš P., Pavlíková D., Balík J.: Chem. Pap. 57, 167 (2003).
9. Száková J., Tlustoš P., Pavlíková D., Balík J.: Sborník z konference *Mikroelementy '03, Nová Rabyň 2003*, str. 177.

10. Davidson C. M., Ferreira P. C. S., Ure A. M. : Fresenius' J. Anal. Chem. 363, 446. (1999).
11. Dakora F. D., Phillips D. A.: Plant Soil 245, 35 (2002).
12. Csillag J., Partay G., Lukacs A., Bujtas K., Nemeth T.: Int. J. Environ. Anal. Chem. 74, 305 (1999).
13. Tyler G., Olsson T.: Eur. J. Soil Sci. 52, 151 (2001).
14. Davison W., Zhang H.: Nature 367, 546 (1994).
15. Ernstberger H., Davison W., Zhang H., Tye A., Young S.: Environ. Sci. Technol. 36, 349 (2002).

Problematika byla řešena v rámci výzkumného projektu NAZV číslo QD 1256 a interního projektu ČZU č. 204/10/44901/0.

J. Száková, P. Tlustoš, D. Pavlíková, and J. Balík
(Department of Agrochemistry and Plant Nutrition, Czech University of Agriculture, Prague): **Modification of Standardized European Soil Sequential Extraction Method for Evaluation of Plant-Available Amounts of Selected Elements**

The extractability of As, Cd, Cu, Pb, and Zn with 0.01 mol l⁻¹ CaCl₂ solution characterizing the plant-available

amount of elements and that with 0.11 mol l⁻¹ CH₃COOH solution representing the first step of sequential extraction procedure SM&T EUR 14763 EN characterizing the exchangeable fraction, and the relationships between element contents in experimental plant (radish and spinach) and soil extracts were investigated. A pot experiment with soil amended by addition of sewage sludge or treated with soluble compounds of toxic elements was carried out in two vegetation periods. Because of ambiguous response of plants to addition of individual elements to the soil, the results of regression analysis were ambiguous as well even if the extraction agents showed differences in element mobility. 0.01 mol l⁻¹ CaCl₂ seemed to be more convenient for As, Cu, and Pb, especially for the above-ground part of radish. For cadmium and zinc, exchangeable portion of these elements closely correlated with the element contents in both radish and spinach. The 0.01 mol l⁻¹ CaCl₂-extractable contents were most likely affected either by element uptake by plants during vegetation or by soil sample processing after harvest including sample preparation for analysis. Thus, 0.01 mol l⁻¹ CaCl₂ seems to be a suitable extractant for evaluation of plant-available amounts of potentially toxic elements in soil and can be reasonably included in the sequential extraction scheme as the first extraction step.

HPLC STANOVENÍ ROBENIDINU V KRMIVECH

MICHAL DOUŠA

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Brno,
Regionální laboratorní oddělení Plzeň, Slovanská alej 20,
317 60 Plzeň
hplc@seznam.cz

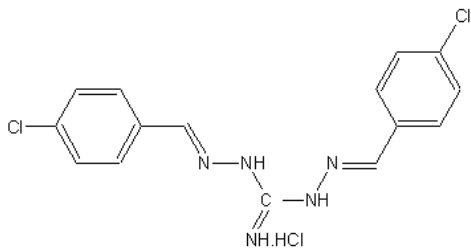
Došlo 18.7.03, přepracováno 15.4.04, přijato 25.6.04.

Klíčová slova: HPLC, robenidin, krmivo

Úvod

Robenidin (obr. 1), 1,5-bis-(4-chlorbenzyliden)karbonimidohydrazid, se v současné době používá jako účinné antikokcidikum ve výkrmu kuřat a krůt a i odchovu kuřic a bažantů v obsazích 30 až 66 mg kg⁻¹ finálního krmiva¹ a jeho ochranná lhůta činí 5 dnů. Jeho aktivita jako antikokcidika byla již popsána².

Ke stanovení obsahu robenidinu v krmivech se používají metody spektrofotometrické nebo chromatografické. Spektrofotometrické stanovení robenidinu je založeno na rozdílu absorbcí v kyselém a alkalickém prostředí po předchozím přečištění extraktu sloupcovou chromatografií na oxidu hlinitém^{3,4}. Dnes se používají především metody HPLC. Automatizovanou HPLC metodu stanovení robenidinu publikovali Zagar a spol.⁵ Autoři používají mobilní fázi methanol – octová kyselina – dichlormethan (90 : 10 : 900) při průtoku 1 ml min⁻¹ stacionární fázi silikagel a UV detekci při 280 nm. Extrakce robenidinu je uskutečňována dvěma způsoby: manuálně methanolem (po naředění roztokem kyselina octová – dichlormethan 10 : 990 je vzorek analyzován) a automaticky pomocí extrakční jednotky SolidPrep II spojené on-line s chromatografickým systémem. Nevýhodou metody je nízká citlivost použité UV detekce při vlnové délce 280 nm. Vhodnější vlnová délka je 352 nm (cit.⁶). Po extrakci robenidinu chloroformem a převedení do acetonitrilu se extrakt analyzuje na reverzní fázi C18 za použití mobilní fáze acetonitril – voda



Obr. 1. Strukturální vzorec robenidinu

– 25 mM-KH₂PO₄ (72,5 : 22,5 : 5) o průtoku 1,5 ml min⁻¹ a UV detekce při 352 nm. Dále byla popsána citlivější HPLC metoda stanovení robenidinu s fluorescenční detekcí po předchozí derivatizaci robenidinu dansylchloridem. Vzniklý derivát je separován na silikagelu za použití mobilní fáze chloroform – hexan – tetrahydrofuran – methanol (50 : 50 : 2 : 1) při průtoku 2 ml min⁻¹ a fluorescenční detekce při 485 nm s excitační vlnovou délkou 320 nm (cit.⁷). Mez detekce je 0,4 mg l⁻¹ (8 ng při objemu nástřiku 20 μl).

Na základě požadavků zákona o krmivech §7 (cit.⁸) Ministerstvo zemědělství České republiky ukládá monitorování výskytu nežádoucích doplňkových látek, mezi které robenidin patří, u výrobků krmiv uváděných do oběhu. V souladu s koncepcí pro monitorování nežádoucích doplňkových látek bylo proto nutno vyvinout rychlou a spolehlivou analytickou metodu, která by byla dostatečně selektivní a citlivá pro koncentrační hladiny robenidinu řádově v mg kg⁻¹.

Experimentální část

Přístroje a zařízení

Extrakce vzorků byla provedena na laboratorní třepačce LT 2 (Laboratorní přístroje, Česká republika) a přečištění extraktu na separační jednotce Baker SPE 12G System (J. T. Baker, USA) na kolonkách Sep-Pak Plus Cartridges Silica (Waters, Milford, USA). K zakoncentrování extraktů se používal koncentrátor vzorků Termovap (Ecom, Česká republika). Odstředění extraktu bylo provedeno na laboratorní odstředivce Hermle Z 230 MR (Hermle, Gosheim, SRN). Všechna měření byla uskutečněna na kapalinovém chromatografu, který se skládal ze dvou vysokotlakých čerpadel W515, z nichž jedno bylo použito k postkolonové derivatizaci, autosampleru W717 Plus Autosampler, spektrofotometrického detektoru W486 (vše Waters, Milford, USA) a datastanice PC Compaq. Derivatizační smyčka RXN 1000 Coil Kit byla umístěna do termostatu Column Temperature Control System (vše Waters, Milford, USA) a byla zařazena mezi chromatografickou kolonu a detektor pomocí směšovací komůrky Mixer Cartridge 50 ml (Supelco, USA). Byla používána kolona XTerra RP18, 4 μm, 3,0 × 150 mm (Waters, Milford, USA). pH roztoků bylo měřeno na pH-metru pH 526 (WTW, SRN) s kombinovanou skleněnou elektrodou a pH-metr byl kalibrován na ftalátový pufr CertiPUR pH 4,01 a borátový pufr pH 9,18 (Merck, SRN).

Chemikálie

Methanol, dichlormethan a acetonitril (vše HPLC grade; J.T. Baker, USA) sodná sůl kyseliny hexan-1-sulfonové (98+ %; Sigma-Aldrich, USA), triethylamin (p.a.; Fluka, Švýcarsko), ethylacetát a hydroxid sodný (p.a.; Lachema Neratovice, Česká republika). Tris(hydroxymethyl)aminomethan (TRIS), kyselina chlorovodíková a kyselina fosforečná (vše čistoty UltraPure; Merck, SRN).

Extrakční roztok byl připraven smísením 200 ml ethylesteru kyseliny octové a 800 ml dichlormethanu. K extrakci na tuhé fázi bylo použito promývací činidlo o složení ethylacetát – dichlormethan (10:90, V/V), a eluční činidlo o složení methanol – dichlormethan (12:88, V/V).

Derivatizační roztok k postkolonové derivatizaci byl připraven rozpuštěním 30,0 g hydroxidu sodného v 1000 ml vody.

Kalibrační roztoky o koncentraci 1,0; 2,0; 4,0 a 10,0 mg l⁻¹ byly připraveny postupným ředěním základního roztoku robenidinu (Röthel, SRN) v methanolu o koncentraci 50 mg l⁻¹ mobilní fázi.

V ý b ě r v z o r k ů

Analýzy byly prováděny na reálných vzorcích finálních krmiv odebraných v rámci státního odborného dozoru (zákon o krmivech⁸ §16 a §17) a na připravených modelových vzorcích krmiv o složení: 45 % pšenice, 15 % ječmen, 12 % sojový extrahovaný šrot, 8 % masokostní moučka, 5 % krevní šrot, 5 % úsušky píce, 5 % pšeničné klíčky mačkané, 4 % vápenec a 1 % premix minerálních látek a vitaminů s přídavkem robenidinu o koncentrační hladině 0,4; 0,8; 1,6; 4,0 a 8,0 mg kg⁻¹. Dále byly připraveny modelové vzorky robenidinu o koncentracích 2 a 4 mg kg⁻¹ naředěním a homogenizací krmné směsi pro brojlery o obsahu robenidinu 60 mg kg⁻¹ (Doagra a.s., Domažlice) pšeničnou krmnou moukou. Tyto připravené vzorky byly použity k mezilaboratorním porovnávacím zkouškám.

P r a c o v n í p o s t u p

Všechny vzorky se upraví homogenizací a mletím na částice o velikosti 0,5 mm tak, aby se zabránilo přehřátí vzorku. 45 g zkušební vzorku se extrahuje 150 ml extrakční směsí 30 min v 500 ml kónické baňce na laboratorní třepače a pak 2 min na ultrazvukové lázni. Takto

Tabulka I

Složení optimalizovaných mobilních fází

Složení	Mobilní fáze		
	I	II	III
Methanol, ml	660	–	–
Acetonitril, ml	–	640	420
Voda, ml	334	360	574
Kyselina fosforečná, ml	4	–	4
Triethylamin, ml	2	–	2
Tris(hydroxymethyl)aminomethan, g	–	2,180	–
Natrium-hexan-1-sulfonát, g	1,8822	–	1,8822
pH	3,5 ^a	9,0 ^b	3,5 ^a

^apH upraveno triethylaminem, ^bpH upraveno kyselinou chlorovodíkovou

získaný extrakt se přečistí na silikagelu.

P ř e č i š t ě n í e x t r a k t u a v l a s t n í s e p a r a c e

Na kolonku Sep-Pak Plus Silica, kondicionovanou 4 ml promývacího činidla, se odměří 10,0 ml přefiltrovaného extraktu. Kolonka se promyje dvakrát 3 ml promývacího činidla a robenidin se eluuje 8 ml elučního činidla do vialky na 10 ml. Eluát se odpaří pod proudem dusíku k suchu při teplotě 50 °C. Odparek se rozpustí ve 2,0 ml mobilní fáze I (viz tabulka I) na ultrazvukové lázni (1 min), promíchá a vytemperuje na laboratorní teplotu. Takto připravený extrakt se odstředí 5 minut při 10 000 ot min⁻¹ a 10 µl extraktu se dávkuje na temperovanou (35 °C) chromatografickou kolonu při průtoku mobilní fáze 1 ml min⁻¹ a UV detekci 314 nm. Složení mobilní fáze je uvedeno v tabulce I.

V ý s l e d k y a d i s k u s e

O p t i m a l i z a c e p ř e d b ě ž n ě s e p a r a c e e x t r a k t u n a t u h ě f á z i

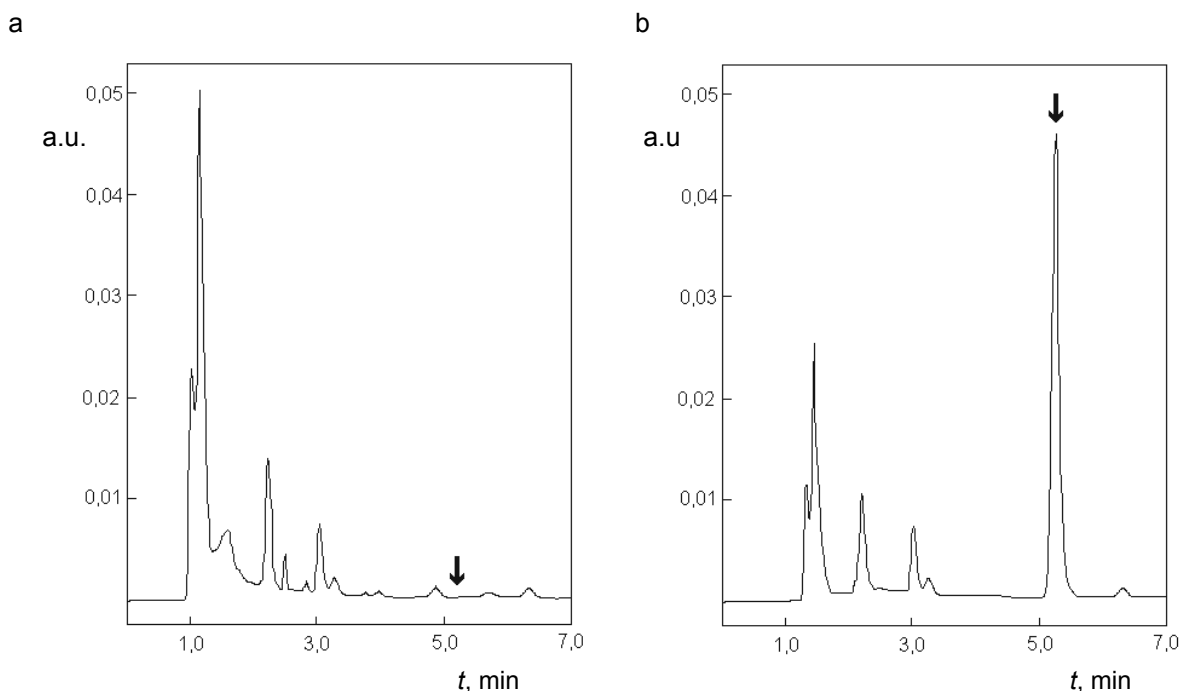
K eluci interferentů ze silikagelu byly zvoleny dva promývací systémy: dichlormethan – ethylacetát (80 : 20) a dichlormethan – ethylacetát (90 : 10). Desorpce robenidinu byla sledována na modelovém roztoku robenidinu v extrakčním roztoku při takové koncentraci, která odpovídala 8 mg kg⁻¹ robenidinu ve finálním krmivu. Při použití promývacího činidla dichlormethan – ethylacetát (80 : 20) se robenidin desorboval již od 8 ml proteklého činidla, při použití promývacího činidla dichlormethan – ethylacetát (90 : 10) se však nedesorboval ani při použití 15 ml činidla, a proto byl zvolen tento promývací systém. Měřením bylo zjištěno, že k desorpci robenidinu postačují 4 ml elučního činidla. Při optimalizaci separace na tuhé fázi byl sledován vliv obsahu tuku v krmivu tak, že se k modelovém roztoku robenidinu přidal roztok kafilerního tuku, který odpovídal obsahu tuku 20 a 80 g kg⁻¹ ve finálním krmivu. Se zvyšujícím se obsahem tuku stoupá spotřeba desorpčního činidla nutná ke kvantitativní desorpci robenidinu až na 5 ml činidla, proto byl zvolen objem 8 ml zaručující dokonalou desorpci a kvantifikaci.

Tabulka II

Separční charakteristiky robenidinu pro optimalizované mobilní fáze

Mobilní fáze ^a	<i>t_R</i> [min] ^b	<i>k</i> ^c	<i>n</i> ^d	<i>A_S</i> ^e
I	5,76	3,12	6 100	1,00
II	4,30	2,07	6 300	1,09
III	4,17	2,01	5 500	1,33

^a Složení viz tab. I; ^b *t_R* – retenční čas; ^c *k* – retenční faktor; ^d *n* – počet teoretických pater; ^e *A_S* – asymetrický faktor



Obr. 2. **Chromatogram robenidinu**; a – slepý pokus modelového vzorku bez přidavku robenidinu, b – modelový vzorek (koncentrace robenidinu 4,0 mg kg⁻¹); HPLC podmínky jsou uvedeny v textu; mobilní fáze I (viz tab. I)

Optimalizace mobilní fáze

Mobilní fáze byly optimalizovány tak, aby retenční faktor byl $k \geq 2,0$, počet teoretických pater $n \geq 5000$ a asymetrický faktor $A_s \leq 1,4$ (chromatogram je uveden na obr. 2). Vypočtené separační charakteristiky u všech tří mobilní fází jsou uvedeny v tabulce II. Vždy byl sledován vliv objemové frakce organického rozpouštědla a u mobilní fáze I vliv koncentrace protiiontu a teploty na retenční faktor.

Vliv objemové frakce organického rozpouštědla φ v mobilní fázi na retenční faktory chromatografované látky k byl popsán rovnicí⁹:

$$\log k = \log k_a - m\varphi \quad (1)$$

kde retenční faktor k_a je retenční faktor v čisté vodě jako eluentu, získaný extrapolací experimentálních údajů a m je parametr přímo závislý na síle organického solventu a povaze solutu. Experimentálně byly zjištěny lineární závislosti mezi objemovou frakcí rozpouštědla a logaritmem retenčního faktoru a vypočtené parametry jsou uvedeny v tabulce III.

Vliv koncentrace protiiontu na retenční faktor byl sledován pro látkové množství 2,5; 5,0; 7,5; 10 a 12,5 mmol l⁻¹ sodné soli kyseliny hexan-1-sulfonové v mobilní fázi. Podle předpokladu retence robenidinu roste s koncentrací protiiontu (obr. 3). Jako optimální byla zvolena koncentrace 10 mmol l⁻¹, kdy se retence mění nejméně.

Retence solutu s rostoucí teplotou klesá a $\log k$ je

Tabulka III

Vypočtené parametry závislosti logaritmu retenčního faktoru na objemovém zlomku organického rozpouštědla v mobilní fázi

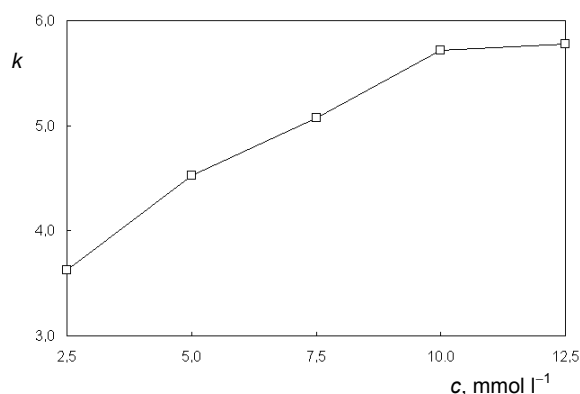
Mobilní fáze ^a	objemový zlomek φ ^b	k_a ^c	$-m$ ^d	r ^e
I	0,55–0,75	19 230	5,79	-0,9989
II	0,55–0,70	498,1	3,80	-0,9995
III	0,35–0,50	3 615	7,23	-0,9980

^a Složení viz tab. I; ^b φ – objemový zlomek organického rozpouštědla v mobilní fázi; ^c k_a – retenční faktor v čisté vodě jako mobilní fázi; ^d m – směrnice závislosti $\log k$ na φ ; ^e r – korelační koeficient závislosti $\log k$ na φ

lineární funkcí převrácené hodnoty teploty T . Tento závěr odpovídá obecnému tvaru van't Hoffových závislostí pro chromatografický proces^{10,11}:

$$\ln k = -\frac{\Delta H^\circ}{RT} + \frac{\Delta S^\circ}{R} + \ln \frac{V_S}{V_M} = A + \frac{B}{T} \quad (2)$$

kde ΔH° , ΔS° jsou standardní entalpie a standardní entropie solutu v daném chromatografickém systému, R je plynová konstanta a A , B jsou konstanty závislé na chromatografickém systému. Experimentální závislosti jsou v dobré



Obr. 3. Závislost retenčního faktoru robenidinu k na koncentraci protiiontu sodné soli hexan-1-sulfonové kyseliny c v mobilní fázi

shodě s těmito závěry a pro rovnici (2) byly vypočteny konstanty $A = -6,2639$ a $B = 2397,0$ s korelačním koeficientem $r = 0,9983$.

S přihlédnutím k získaným výsledkům byla zvolena jako optimální mobilní fáze I.

D e t e k c e

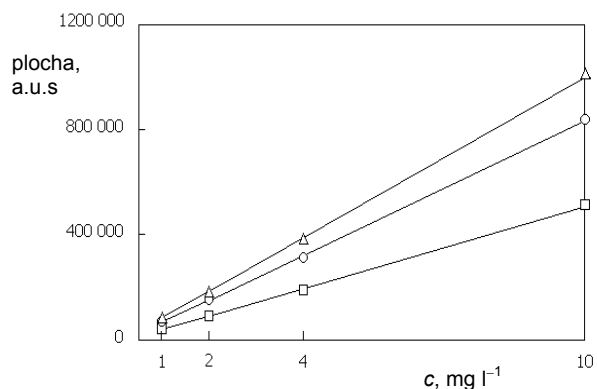
Na absorpční spektrum robenidinu má vliv pH prostředí. V kyselém prostředí je absorpční maximum 314 nm, se stoupajícím pH se maximum batochromně posouvá na 347–348 nm, v silně alkalickém prostředí hydroxidu sodného pak vzniká barevný produkt s maximem absorpance při 464 nm (cit.⁴). Tento fakt byl využit ke zvýšení selektivity detekce. Reakce s hydroxidem sodným byla provedena za kolonou a optimální podmínky jsou uvedeny v tabulce IV. Při derivatizační reakci za kolonou byla optimalizována teplota, průtok derivatizačního činidla a koncentrace hydroxidu sodného.

Dále bylo zjištěno, že teplota v rozmezí 20–70 °C nemá vliv na odezvu detektoru vyjádřenou jako směrnice

Tabulka IV

Podmínky pro postkolonovou derivatizaci hydroxidem sodným

Parametr	Hodnota
Kolona	XTerra RP18, 4 μ m, 3,0 \times 150 mm
Průtok mobilní fáze	0,8 ml min ⁻¹
Mobilní fáze	mobilní fáze II
Průtok derivatizačního činidla	0,4 ml min ⁻¹
Objem derivatizační smyčky	1000 μ l
Teplota derivatizační smyčky	laboratorní
Teplota kolony	35 °C
Objem nástřiku	50 μ l
Detektor UV	406 nm



Obr. 4. Vliv koncentrace hydroxidu sodného na kalibrační přímky po postkolonové derivatizaci; □ 0,25 M-NaOH, ○ 0,50 M-NaOH, Δ 0,75 M-NaOH

Tabulka V

Vliv průtoku derivatizačního činidla na kalibrační závislosti

Průtok derivatizačního činidla [ml min ⁻¹]	A^a	B^b	r^c
0,2	-8037	91 700	0,9999
0,4	-6350	93 900	0,9999
0,6	-1230	86 460	0,9999
1,0	-11 110	77 220	0,9999

Chromatografické podmínky jsou uvedeny v tab. IV; ^a A – směrnice kalibrační závislosti (μ V s mg⁻¹ l); ^b B – úsek kalibrační závislosti (μ V s); ^c r – korelační koeficient

kalibrační přímky.

Při průtoku derivatizačního činidla 0,4 ml min⁻¹ je směrnice kalibrační přímky nejvyšší, se zvyšujícím se průtokem klesá (viz tabulka V).

Dále bylo zjištěno, že citlivost detekce stoupá se zvyšující se koncentrací hydroxidu sodného (obr. 4).

P ř e s n o s t a s h o d n o s t

Vzhledem k tomu, že nejsou dostupné certifikované referenční materiály, byla přesnost metody (těsnost shody získané hodnoty s hodnotou skutečnou nebo přijatou referenční hodnotou) ověřena analýzou modelových vzorků. Pro každou koncentrační hladinu byl vzorek analyzován pětkrát. Výsledky a vypočtené statistické parametry (hladina významnosti $p = 0,95$) jsou uvedeny v tabulce VI. Celková výtěžnost metody pro koncentrační hladiny 0,4 až 8,0 mg kg⁻¹ je $(101,2 \pm 6,5)$ %. Nalezené hodnoty modelového vzorku byly s očekávanými hodnotami srovnány lineární regresí. Očekávané hodnoty byly považovány za nezávisle proměnné, nalezené hodnoty za závisle proměnné. Konstanta a regresního vztahu (konstantní odchylka) má hodnotu $0,0411 \pm 0,3373$ a statisticky se neliší od nuly.

Tabulka VI

Statistické hodnocení HPLC stanovení robenidinu v modelových vzorcích krmných směsí ($n = 5$)

Statistické parametry					
Očekávaná hodnota, mg kg ⁻¹	0,40	0,80	1,60	3,95	7,96
Nalezená hodnota, mg kg ⁻¹	0,41	0,78	1,59	4,23	7,87
Výtěžek metody, %	100,7	97,8	99,3	107,1	98,9
Interval spolehlivosti, %	3,1	1,5	2,4	1,1	1,1
Relativní směrodatná odchylka, %	0,25	1,66	0,25	1,21	1,14

Konstanta b regresního vztahu (proporcionální odchylka) má hodnotu $0,9976 \pm 0,0832$ a neliší se statisticky od jedničky. Metoda poskytuje přesné výsledky.

Shodnost metody (míra těsnosti shody mezi vzájemně nezávislými výsledky zkoušek za předem specifikovaných podmínek) byla pouze omezena na výpočet opakovatelnosti, která byla vypočtena ze směrodatné odchylky rozpětí obou paralelních stanovení reálných vzorků krmiv, jejichž celkový počet byl 15. Po vyloučení odlehlých výsledků (Cochranův test) má opakovatelnost pro obsahy 0,40 až 4,50 mg kg⁻¹ hodnotu 0,09 mg kg⁻¹.

Mezilaboratorní porovnávací zkouška

Reprodukovatelnost metody byla stanovena mezilaboratorní porovnávací zkouškou. Mezilaboratorní porovnávací zkoušky se zúčastnilo 7 laboratoří za podmínek

normy ISO 5725–1986 (cit.¹²) a bylo provedeno vyhodnocení ukazatele opakovatelnosti a reprodukovatelnosti dané metody. Ke statistickému testování odlehlosti hodnot byl použit Cochranův jednostranný test odlehlosti a Grubbsův test v kombinaci s tímto postupem:

- je-li $p > 5\%$, tj. je-li testovaná charakteristika Grubbsova nebo Cochranova testu menší než její pětiprocentní kritická hodnota, považuje se testovaná hodnota za správnou
- je-li $5\% \geq p > 1\%$, tj. leží-li testovaná charakteristika mezi jednoprocentní a pětiprocentní kritickou hodnotou, označí se testovaná hodnota jako odlehlá
- je-li $p \leq 1\%$, tj. je-li testovaná charakteristika Grubbsova nebo Cochranova testu větší než její jednoprocentní kritická hodnota, označí se testovaná hodnota jako odlehlá.

Tabulka VII

Výsledky mezilaboratorní porovnávací zkoušky

Laboratoř	Vzorek	
	1 1 mg kg ⁻¹	2 4 mg kg ⁻¹
F	1,91 ^a	3,08
G	1,42	3,14
D	1,33	3,22
E	1,16	3,74
C	1,54	4,06
B	1,55	4,24
A	1,45	4,40
Průměrná hodnota, mg kg ⁻¹	1,41	3,70
Počet neodlehlých laboratoří	6	7
Směrodatná odchylka opakovatelnosti s_r , mg kg ⁻¹	0,01	0,06
Směrodatná odchylka reprodukovatelnosti s_R , mg kg ⁻¹	0,03	0,34
Ukazatel opakovatelnosti r , mg kg ⁻¹	0,29	0,67
Ukazatel reprodukovatelnosti R , mg kg ⁻¹	0,46	1,62

^a Hodnota byla označena jako odlehlá

Jako vzorky byly použity modelové vzorky o koncentraci 1 a 4 mg kg⁻¹.

Výsledky mezilaboratorní porovnávací zkoušky jsou sestaveny do tabulky VII. Je zřejmé, že ukazatel opakovatelnosti stanovení robenidinu metodou HPLC pro obsahy 1 a 4 mg kg⁻¹ dosahuje hodnoty 18 až 20 % rel. a ukazatel reprodukovatelnosti se pohybuje v rozmezí 32 až 44 % rel.

Mez detekce a mez stanovitelnosti

Mez detekce a mez stanovitelnosti byly vypočteny jako trojnásobek resp. desetinásobek šumu základní linie. Mez detekce má hodnotu 0,13 mg l⁻¹, tj. pro pracovní postup 90 µg kg⁻¹ a mez stanovitelnosti má hodnotu 0,43 mg l⁻¹, tj. pro standardní operační postup 0,30 mg kg⁻¹.

Závěr

Byla vyvinuta HPLC metoda stanovení robenidinu v krmivech pro koncentrace řádu mg kg⁻¹. Byla optimalizována předseparace, separace i detekce robenidinu tak, aby chom dostali co nejnižší hodnoty meze stanovitelnosti robenidinu a získané výsledky byly shodné a přesné. Byla stanovena hodnota opakovatelnosti a reprodukovatelnosti metody na základě statistického vyhodnocení mezilaboratorních porovnávacích zkoušek. Metoda je rychlá a celková doba analýzy je asi 90 min.

LITERATURA

1. Vyhláška č. 194/1996 Sb. Ministerstva zemědělství, kterou se provádí zákon o krmivech, ve znění pozdějších předpisů.
2. Kantor S., Kennett R., Waletzki E.: *Science* 168, 373 (1970).
3. Analytical Methods Committee: *Analyst* 100, 668 (1975).
4. Bories G. F.: *Analyst* 100, 567 (1975).
5. Zagar B. J., Acione P. P., Chrekian G. P.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 58, 822 (1975).
6. Ramos F., da Silveira I. N.: *Bol. Fac. Farm. Coimbra* 15, 61 (1991).
7. Cohen H., Armstrong F., Campbell H.: *J. Chromatogr.*, A 694, 407 (1995).
8. Zákon č. 91/1996 Sb., o krmivech ve znění pozdějších předpisů.
9. Berendsen G. E., Galan L.: *J. Chromatogr.* 196, 21 (1980).
10. Colin H., Guiochon G.: *J. Chromatogr.* 158, 183 (1978).
11. Jinno K., Ozaki N.: *J. Liq. Chromatogr.* 7, 877 (1984).
12. ČSN 01 0251 (eqv. ISO 5725-1986), Stanovení opakovatelnosti a reprodukovatelnosti normalizované zkušební metody pomocí mezilaboratorních zkoušek, ÚNM, Praha 1988.

M. Douša (*Central Institute for Supervising and Testing in Agriculture Brno, Regional Laboratory, Plzeň*):
HPLC Determination of Robenidine in Feedstuffs

An HPLC method of determination and fast monitoring of low concentrations of robenidine in feedstuffs was developed. Robenidine is extracted from sample with a dichloromethane – ethyl acetate mixture and, after purification of the extract on a Sep-Pak Silica column, is determined by ion-pair HPLC on C18 reverse phase with UV detection at 314 nm. The preseparation and separation of robenidine were optimized. The limit of determination, repeatability and recovery of the method are 400 µg kg⁻¹, 90 µg kg⁻¹ and 101.2 ± 6.5 %, respectively, at robenidine concentrations 0.4–4.5 mg kg⁻¹. In the interlaboratory comparison tests of the method at the 1 and 4 mg kg⁻¹ levels, the repeatability and reproducibility indexes were calculated, ranging from 18 to 20 % and from 32 to 44 %, respectively.

VLIV PŘIDÁVÁNÍ SLOUČENIN SELENU DO PŮDY NA OBSAH SLOUČENIN SELENU V HLÍZÁCH BRAMBOR

JAROSLAV HLUŠEK^a, MIROSLAV JUŽL^a,
JAROSLAV ČEPL^b a TOMÁŠ LOŠÁK^a

^aÚstav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, ^bVýzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o., Dobrovského 2366, 580 01 Havlíčkův Brod
hlusek@mendelu.cz, vubhb@vubhb.cz

Došlo 23.3.05, přijato 4.5.05.

Klíčová slova: selen, brambory, hlízy

Úvod

Selen patří pro člověka k esenciálním prvkům, pro vyšší rostliny je to prvek užitečný¹. Obsah selenu v půdách se zpravidla pohybuje v rozpětí 0,02–2 mg na kg půdy², přičemž se vyskytuje v různých oxidačních stupních jako selenid (Se^{2-}), selenit (SeO_3^{2-}) a selenát (SeO_4^{2-}) (cit.)³. Vodorozpustná frakce Se v půdě je přijímána rostlinami⁴, přičemž rostliny přednostně přijímají selenáty před selenity^{5,6}. Kromě toho může být rostlinami přijímán selen i ve formě aminokyseliny, jako je selenomethionin⁷. Koncentrace selenu v rostlinách je závislá na jeho obsahu v půdě⁸. Příjem sloučenin selenu a jeho asimilace je přirovnávána k metabolismu síry. Jednotlivé rostlinné druhy se významně liší schopností příjmu a akumulace sloučenin selenu i tolerancí k nadbytku selenu³.

Biologicky aktivními sloučeninami selenu jsou různé bílkoviny. Bylo prokázáno, že existuje přibližně třicet proteinů s enzymovou aktivitou, přičemž nejdůležitější z nich je glutathionperoxidasa⁹. Tento enzym se podílí na ochraně lipoproteinových membrán proti působení hydroperoxidů a jiných toxických sloučenin kyslíku.

V posledních letech se často hovoří o nedostatečném přísunu selenu do lidského organismu¹⁰. Podle některých pramenů je jedna třetina až polovina naší populace ve stavu mírného až vážného nedostatku selenu¹¹. Deficitní obsah Se v organismu může zvyšovat riziko kardiovaskulárních onemocnění, karcinomů a dalších poruch, které jsou způsobené volnými radikály¹². Podle údajů z literatury sloučeniny selenu dále ovlivňují aktivitu thyroïdního hormonu, činnost jater, imunitní reakce organismu, růst a plodnost¹³. Průměrný denní příjem u člověka je odhadován na 0,07 mg Se, přičemž nezbytná dávka je až 0,15 mg Se na den¹⁴. Proto je opodstatněná snaha o zajištění vyšší

koncentrace selenu na počátku nebo konci potravního řetězce¹⁵. Ve Finsku začali již v roce 1984 s přidáváním sloučenin selenu do hnojiv na celostátní úrovni s cílem zvýšit jeho koncentraci v rostlinách¹⁶. Zatímco ve Finsku¹⁷ obsah selenu v hlízách brambor kolísá od 0,023 do 0,150 mg Se kg^{-1} , v Polsku se pohybuje v čerstvé hmotě bramborových hlíz od 0,020 až do 0,290 mg Se kg^{-1} .

Kromě přidávání selenu do půdy je možné rovněž využít foliární aplikace (na list), kdy je zajištěna vyšší účinnost jeho příjmu nadzemními orgány rostlin^{18,19}. Brambory přijímají selen poměrně intenzivně, avšak nadzemní části (nať) ho obsahují pětikrát více než hlízy²⁰.

Cílem práce bylo ověřit možnost zvýšení obsahu selenu v hlízách brambor přidáváním sloučenin selenu do půdy před jejich výsadbou.

Experimentální část

Polní pokusy

Polní pokusy s bramborami byly založeny na pokusném objektu MZLU v Brně v lokalitě Žabčice u Brna a polní pokusné stanici Valečov u Havlíčkova Brodu. Agrochemická charakteristika zeminy před založením pokusů je uvedena v tab. I. Do pokusů byly jako pokusné rostliny zařazeny dvě odrůdy brambor a to velmi raná Karin a poloraná Lenka. Výsadba hlíz proběhla v lokalitě Žabčice 7.4.2004 a v lokalitě Valečov 4.5.2004.

Tabulka I

Výsledky chemické analýzy půd před založením pokusů v roce 2004 (stanoveno metodikou Mehlich III)

Složka	Hodnota mg kg^{-1}	
	Žabčice	Valečov
pH/ CaCl_2	6,92 ^a	5,90 ^a
Fosfor	118,3	149,2
Draslík	219,6	154,4
Hořčík	385,6	104,0
Vápník	4685,5	1562,5
Selen ^b	0,1	0,1

^a Jednotky pH, ^b obsah Se byl stanoven ve 2 M- HNO_3

Analýtické metody

Zemina. Zemina byla extrahována podle Mehlicha III (CH_3COOH , NH_4NO_3 , NH_4F , HNO_3 a EDTA). Stanovení obsahu přístupného fosforu ve výluhu bylo provedeno kolorimetricky, draslíku plamenometricky, hořčík a vápník byl stanoven atomovou absorpční spektrofotometrií. Obsah selenu v půdách byl stanoven atomovou absorpční spektrofotometrií ve výluhu 2 M- HNO_3 .

Hlízy. Po sklizni byly hlízy zbaveny slupky, sušeny

při 60 °C v laboratorní sušárně, homogenizovány na laboratorním šrotovníku a dále analyzovány. Mineralizace hlíz pro stanovení selenu byla provedena rozkladem vzorků ve směsi HNO_3 a H_2O_2 v mikrovlnném zařízení MILESTONE MLS 1200 MEGA. Po převedení do definovaného objemu byl rozložený vzorek analyzován na atomovém absorpčním spektrofotometru UNICAM 939 „SOLAR“ metodou tvorby hydridů pomocí „vapor systém“ UNICAM VP 90. Kalibrace byla provedena na certifikovaný kalibrační roztok selenu CZ 9051 (Analytika Praha). Celý postup stanovení byl ověřen na certifikovaném referenčním materiálu jetele bílého CRM 402 (Belgie). Výsledky byly statisticky zhodnoceny analýzou variance s vyjádřením statistické průkaznosti pomocí konfidenčních intervalů.

Forma dávkování sloučenin selenu do půdy

Pokusy na obou lokalitách byly založeny na hodnocení výsledku pěstění pro 5 úrovní obsahu selenu v půdě: varianta 1 – kontrola, varianta 2 – 12 kg Se ha⁻¹, varianta 3 – 24 kg Se ha⁻¹, varianta 4 – 48 kg Se ha⁻¹, varianta 5 – 72 kg Se ha⁻¹.

Selen byl do půdy aplikován ve formě roztoku seleničitanu sodného na povrch půdy dva týdny před výsadbou brambor. Následně, při přípravě půdy, byl selen zapraven do celého orničního profilu, aby došlo k ustavení rovnováhy mezi půdním roztokem a pevnou půdní fází.

Výsledky a diskuse

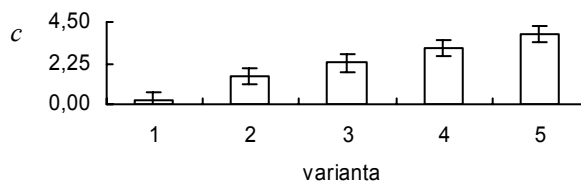
Obsah selenu v půdách vyhláška č. 13/1994 Sb. neřeší a lze ho zhodnotit alespoň podle kritérií, která uvádí Beneš²¹. Podle jeho klasifikace se rozlišuje obsah selenu (mg Se kg⁻¹ zeminy) nízký (do 0,3), střední (0,3–0,6) a vysoký (nad 0,6). Je možno konstatovat, že půdy na obou pokusných stanovištích se shodným přirozeným obsahem < 0,1 mg Se kg⁻¹ jsou selenem nezatížené (tab. I). Jako nejvyšší přípustná množství selenu v krmivech uvádí Beneš (1994) hodnoty od 0,5 do 1,5 mg kg⁻¹ (objemná krmiva a krmné směsi). Vyhláška MZe obsah selenu v potravinách bohužel nehodnotí.

Výsledky chemických analýz hlíz jsou uvedeny

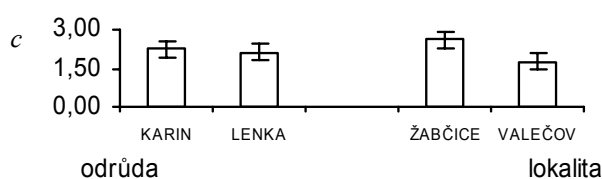
Tabulka II

Průměrné obsahy selenu v hlízách brambor (mg Se kg⁻¹) zjištěné v pěstebních pokusech na pozemcích s různým obsahem selenu v půdě

Varianta číslo	Obsah selenu v půdě kg Se ha ⁻¹	Odrůda Karin		Odrůda Lenka	
		Žabčice	Valečov	Žabčice	Valečov
1	kontrola	0,22	0,20	0,20	0,20
2	12	1,52	0,58	2,80	1,16
3	24	3,49	1,66	2,35	1,54
4	48	4,03	3,19	2,69	2,26
5	72	3,74	3,69	4,88	3,21



Obr. 1. Vliv varianty obohacení obsahu sloučenin selenu v půdě na jeho obsah c (mg kg⁻¹) v hlízách brambor



Obr. 2. Vliv lokality pozemku a odrůdy brambor na průměrný obsah selenu c (mg kg⁻¹) v hlízách brambor

v tabulce II, výsledky statistického zpracování výsledků jsou na obr. 1 a 2. Obsah selenu v hlízách brambor u odrůdy Karin kolísá v závislosti na lokalitě od 0,20 do 4,03 mg kg⁻¹ sušiny a u odrůdy Lenka od 0,20 do 4,88 mg kg⁻¹ sušiny. Koncentrace selenu se v hlízách zvyšovala se stupňovanými dávkami selenu do půdy. Tyto výsledky korespondují s poznatky Sippola²², který uvádí pozitivní lineární korelaci mezi obsahem Se v pletivech rostlin a jeho obsahem v půdě. Obsah selenu v rostlinné produkci lze ovlivnit aplikací jeho sloučenin, např. seleničitanem sodným do půdy, čímž se zvýší hladina selenu v potravním řetězci²³. Kromě kontrolní varianty jsou další průkazné rozdíly mezi variantami 2 a 4, 5; rovněž mezi variantami 3 a 5, jak souhrnně znázorňuje obr. 1.

Z obr. 2 je zřejmé, že průměrný obsah selenu v hlízách sledovaných odrůd byl velmi vyrovnaný, bez průkazného rozdílu (Karin 2,23 mg Se kg⁻¹sušiny, Lenka

2,13 mg Se kg⁻¹ sušiny). U všech variant s aplikací selenu (var. 2–5) byly převyšeny hodnoty 0,048–0,458 mg Se kg⁻¹ sušiny prezentované Koutníkem⁸, který je ovšem považuje z hlediska nutričního za nedostatečné. Při hodnocení vlivu lokality byl zjištěn signifikantní rozdíl v koncentraci selenu v hlízách. V Žabčicích obsahovaly hlízy v průměru 2,60 mg Se kg⁻¹ sušiny, zatímco v hlízách z Valečova bylo nalezeno v průměru pouze 1,77 mg Se kg⁻¹ (obr. 2). Tento rozdíl znamená 1,5× vyšší koncentraci selenu v hlízách ze žabčického pokusného stanoviště.

Závěr

Z výsledků polního pokusu se stupňovanými dávkami selenu aplikovaného do půdy při pěstování brambor vyplynulo, že se obsah Se v hlízách zvyšoval v přímé závislosti s jeho aplikovanou dávkou. Zatímco mezi dvěma odrůdami brambor nebyly prokázány statistické difference v koncentraci selenu, vliv lokality byl relevantní. Aplikace optimální dávky selenu do půdy je předpokladem jeho požadované koncentrace v rostlinách a tím pozitivního ovlivnění nutriční kvality finálního produktu.

Práce je řešena v rámci grantového projektu NAZV č. 46058.

LITERATURA

1. Levander O. A.: *Ann. Rev. Nutr.* 7, 227 (1987).
2. Scheffer F., Schachtschabel P., v knize: *Lehrbuch der Bodenkunde*. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart (1992).
3. Marschner H., v knize: *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press Limited, London (1995).
4. Kabata-Pendias A., Pendias H., v knize: *Trace Elements in Soils and Plants*. CRC Pres, Boca Raton (1984).
5. Smith G. S., Watkinson J. H.: *New Phytol.* 97, 557 (1984).
6. Banuelos G. S., Meek D. W.: *J. Plant Nutr.* 12, 1255 (1989).
7. Abrams M. M., Shennan C., Zasoski J., Bureau R. G.: *Agron. J.* 82, 1127 (1990).
8. Koutník V.: *Rostlinná výroba*, 42, 63 (1996).
9. Johnson M. A., Fischer J. G.: *Food Technol.* 48, 112 (1994).
10. Tan J., Zhu W., Wang W., Li R., Hou S., Wang D., Yang L.: *Sci. Total Environ.* 284, 227 (2002).
11. Velíšek J., v knize: *Chemie potravin 2*. OSSIS, Tábor (2002).
12. Rayman M. P.: *Lancet* 356, 233 (2000).
13. Arthur J. R., Beckett G. J.: *Proc. Nutr. Soc.* 53, 615 (1994).
14. Třebichavský J., Havrdová D., Blohberger M., v knize: *Toxické kovy*. NSO, Kutná Hora (1998).
15. Ducsay L., Ložek O.: *Plant, Soil Environ.*, v tisku.
16. Lahermo P., Alfthan G., Wang D.: *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 17, 205 (1998).
17. Thorn J., Robertson J.: *J. Nutr.* 39, 391 (1978).
18. Cao Z. H., Wang X. C., Yao D. H., Zhang X. L., Wong M. H.: *Environ. Inst.* 26, 335 (2001).
19. MacLeod J. A., Gupta U. C., Milburn P., Sanderson J. B.: *Can. J. Soil Sci.* 78, 685 (1998).
20. Sima P., Gissel-Nielsen G.: *Acta Agric. Scand.* 35, 161 (1985).
21. Beneš S., v knize: *Obsahy a bilance prvků ve sféře životního prostředí*, I. část. MZe ČR, Praha (1993).
22. Sippola J.: *Ann. Agric. Fenn.* 18, 182 (1979).
23. Bahners N.: *Disertace*. Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn 31, (1987).

J. Hlušek^a, M. Jůzl^a, J. Čepl^b, and T. Lošák^a (^a Department of Agrochemistry, Soil Science, Microbiology and Plant Nutrition, Mendel University of Agriculture and Forestry, Brno, Czech Republic, ^b Research Institute for Potato Growing, Havlíčkův Brod, Czech Republic): **The Effect of Selenium Supplementation on Its Concentration in Potato Tubers**

In small-plot field trials in two localities, we explored the effect of various doses of selenium in the form of sodium selenite in the soil (0, 12, 24, 48 and 72 kg Se per hectare) on its concentration in potato tubers of two varieties. The results showed that the Se content in the tubers increased with the applied dose from 0.20 to 4.88 mg Se per kg of dry matter and from 0.034 to 0.829 mg Se per kg of green matter. No statistical differences in the Se concentration in the tubers between the varieties were detected. The effect of the locality was relevant; the average Se content in the tubers was different (2.59 and in 1.77 mg Se per kg of dry matter). Application of an optimal dose of Se into the soil before potato planting increased the Se content in the plants thus ensuring the input of necessary amounts of this essential element into the food chain.

HODNOTENIE METÓDY STANOVENIA SELÉNU V ZELENINE ATOMOVOU ABSORPČNOU SPEKTROFOTOMETRIOU S ELEKTROTERMICKOU ATOMIZÁCIU A S GENEROVANÍM HYDRIDOV

ONDREJ HEGEDÜS^{ab}, ALŽBETA HEGEDÜSOVÁ^{bc}, JURAJ GAŠPARÍK^a a ADRIANA IVIČIČOVÁ^a

^a Regionálny úrad verejného zdravotníctva so sídlom v Nových Zámkoch, Slovenská 13, 940 30 Nové Zámky,

^b Výskumný ústav zeleninársky, Andovská 6, 940 01 Nové Zámky, ^c Katedra chémie, Fakulta prírodných vied Univerzity Konštantína Filozofa, Tr. A. Hlinku 1, 949 01 Nitra, Slovenská republika
labodbor@zoznam.sk, valsikovam@vuznz.sk, ahegedusova@ukf.sk

Došlo 9.2.04, prepracované 12.1.05, prijaté 27.1.05.

Kľúčové slová: stanovenie selénu, ETA-AAS, HG-AAS, validácia

Úvod

Biologická hodnota vypestovaných poľnohospodárskych produktov závisí od kvality pestovateľských substrátov – pôd. V pôdach prítomné biogénne prvky sa transferujú do rastlín a tým do potravinového reťazca. Z týchto prvkov má veľmi významné postavenie selén, ktorý vplýva na zdravie ľudskej populácie. Hladina selénu v ľudskom organizme je závislá od jeho obsahu v systéme pôda – rastlina^{1,2}.

Rozloženie selénu závisí od rastlinného druhu. Obsah selénu je dvoj- až trojnásobne väčší v zrne a v koreni ako v stonke a v listoch. Selén vo forme seleničitanov sa nachádza hlavne v koreňoch, vo forme selenanov v stonke a v ostatných nadzemných orgánoch rastlín. Príčina je v rozdielnej redukčnej schopnosti rastlín. Seleničitany sú v rastlinách redukované až na elementárny selén, selenany sú málo redukované^{3,4}.

Zelenina svojim priaznivým látkovým zložením má významné postavenie v ľudskej výžive. Hladina selénu dosahuje v zeleninách hodnoty v rozmedzí od 0,001 do 0,034 mg kg⁻¹ čerstvej hmoty. Najbohatšie na Se sú rajčiny (0,034 mg kg⁻¹) a mrkva (0,020 mg kg⁻¹) (cit.⁵).

Svetová zdravotnícka organizácia stanovila doporučený denný príjem selénu v množstve 50–200 µg. Za optimálny sa považuje príjem 1 µg na deň na kg hmotnosti, priemer pre dospelé ženy 55 µg a pre dospelých mužov 70 µg na deň^{6,7}.

Pre stanovenie nízkych koncentrácií selénu v biologických materiáloch sú v literatúre popisované viaceré

metódy^{8,9}.

- spektrometrické (ETA-AAS, HG-AAS, fluorescenčná spektrometria, ICP-MS),
- elektrochemické (pulzná polarografia, katodická rozpúšťacia voltampérometria),
- rádiochemické (neutrónová aktivačná analýza, röntgenofluorescenčná analýza),
- separačné (plynová chromatografia, kvapalinová chromatografia).

Na stanovenie selénu vo vzorkách rastlinného a živočíšneho pôvodu sa v súčasnosti využíva najmä atómová absorpčná spektrofotometria (AAS). Analýza týchto matric si vyžaduje náročný rozklad pomerne veľkého množstva vzorky. Relatívne vyššie hladiny selénu sa často stanovujú metódou AAS po elektrotermickej atomizácii (ETA-AAS) s deutériovou kompenzáciou pozadia, resp. so Zeemanovou korekciou pozadia. Ursínyová a Hladíková⁸, stanovujú Se v krvnom sére priamo bez predošlej mineralizácie metódou ETA-AAS. V rámci špeciálnych analýz je využívaná prevažne technika generovania hydridov (HG-AAS). Podstata metódy spočíva v generácii hydridov analytu po redukcii na hydrid v kvapalnej fáze, jeho prevedení do plynnej fázy a následnej atomizácii v optickej dráhe atómového absorpčného spektrofotometra. Základným rysom tejto techniky je separácia analytu od matrice a jeho vyššia koncentrácia v absorpčnom prostredí v porovnaní s klasickými metódami AAS. V hydridovom atomizátore nie sú spektrálne interferencie závažným problémom. Nespektrálne interferencie sa prejavujú v kvapalnej fáze, pri redukcii analytu na hydrid a pri uvoľnení hydridu z roztoku, a v plynnej fáze prevažne v atomizátore¹⁰. Charakteristickým rysom nespektrálnych interferencií je, že nie sú aditívne, je možné ich korigovať technikou prídavkov.

Cieľom práce bolo porovnať dve techniky stanovenia Se metódou AAS a na základe štatistického hodnotenia výsledkov navrhnúť metódu vhodnú na stanovenie jeho nízkych koncentrácií v zelenine.

Experimentálna časť

Použitie prístroje a zariadenia

- na stanovenie selénu sa použil atómový absorpčný spektrofotometer SpectrAA–200 fy. Varian, Australia,
- merania sa uskutočnili využitím hydridovej techniky s modulom VGA-77 a techniky elektrotermickej atomizácie s deutériovou kompenzáciou pozadia s modulom GTA-100,
- kremíková absorpčná cela pre hydridovú techniku,
- mineralizačný autokláv ZA-1.

Chemikálie a reagenty

Pre techniku HG-AAS:

- základný roztok selénu (Merck) o koncentracii 1000 mg l⁻¹,

- pracovné roztoky selénu sa pripravili riedením základného roztoku zriedeným roztokom HCl o konc. $1,7 \text{ mol l}^{-1}$ v deionizovanej vode,
- deionizovaná voda,
- kyselina chlorovodíková, suprapur, Merck,
- pracovné roztoky HCl o konc. $1,7 \text{ mol l}^{-1}$, 7 mol l^{-1} a 10 mol l^{-1} sa pripravili riedením z koncentrovanej HCl suprapur deionizovanou vodou,
- kyselina dusičná, suprapur, Merck,
- peroxid vodíka p.a. Merck, s certifikátom,
- redukant: 0,6% tetrahydridoboritan sodný (NaBH_4) p.a. Merck s 0,5% NaOH v deionizovanej vode.

Pre techniku ETA-AAS:

- základný roztok selénu (Merck) o koncentrácii 1000 mg l^{-1} ,
- pracovné roztoky sa pripravili riedením základného roztoku v 1% (v/v) roztoku HNO_3 (Merck, Suprapur) v deionizovanej vode,
- deionizovaná voda,
- kyselina dusičná, suprapur, Merck,
- peroxid vodíka p.a. Merck s certifikátom.

P o d m i e n k y m e r a n i a

- a) Pri použití hydridovej techniky sa na meranie použila katódová selénová výbojka – prúd na lampe 10 mA, vlnová dĺžka 196 nm, šírka štrbiny 1,0 nm bez kompenzácie pozadia. Čas nasávania vzorky pred samotným odčítaním 45 s, merací (integračný) čas 5 s, vyhodnotenie výšky signálu, prietok argónu 60 ml min^{-1} . Atomizačným prostredím bola kremenná kyveta vyhrievaná na $900 \text{ }^\circ\text{C}$, nosným roztokom HCl o konc. 10 mol l^{-1} a redukčným činidlom bol 0,6% NaBH_4 s 0,5% NaOH. Pre vyhodnotenie výsledkov sa použila metóda štandardných prídavkov.
- b) Pri použití elektrotermickej atomizácie sa na meranie použila katódová selénová výbojka, prúd na lampe 10 mA, vlnová dĺžka 196 nm, šírka štrbiny 1,0 nm,

s deutériovou kompenzáciou pozadia. Dávkovaný objem vzorky 10 μl . Použité modifikátory: paládiový modifikátor $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ o koncentrácii $0,1 \text{ mg l}^{-1}$ v roztoku 0,1% HNO_3 v dávkovanom objeme 10 μl a kyselina askorbová o koncentrácii 1 % v dávkovanom objeme 10 μl . Pre vyhodnotenie výsledkov sa použila metóda kalibračnej krivky. Teplotný program uvádza tabuľka I.

V a l i d á c i a m e t ó d

Obidve použité metódy (ETA-AAS a HG-AAS) boli podrobené validácii, pričom sa stanovili nasledovné vybrané validačné charakteristiky metódy:

- zhodnosť – v podmienkach opakovateľnosti,
- kalibračná krivka a linearita,
- medza detekcie a medza stanoviteľnosti,
- štandardná kombinovaná neistota.

Zhodnosť (opakovateľnosť) sa charakterizovala výberovým variačným koeficientom s_R , ktorý sa počítal zo smerodajnej odchýlky s a aritmetického priemeru \bar{x} série meraní v podmienkach opakovateľnosti t.j. podmienkach, pri ktorých sa nezávislé výsledky skúšok získajú tou istou metódou na identických skúšaných jednotkách, v tom istom laboratóriu, tým istým operátorom, pri použití toho istého vybavenia počas krátkeho časového rozpätia¹¹. Vypočítaný s_R sa hodnotil podľa vopred určenej požiadavky.

$$s_R = 100 \cdot s / \bar{x} \quad (1)$$

požiadavka: $s_R < 5 \%$.

Kalibračná krivka: Vypočítali sa základné parametre kalibračnej krivky (smernica závislosti m , posun regresnej priamky b a jeho štatistické testovanie, koeficient determinácie R^2 a spoľahlivosť kalibračného vzťahu reprezentovaná reziduálnou smerodajnou odchýlkou s_y , resp. relatívnou reziduálnou smerodajnou odchýlkou $s_{y,rel}$). V prípade, že sa dokáže štatisticky významná odlišnosť posunu regresnej priamky od nuly, s hodnotou b sa počíta, v opačnom prípade sa b zanedbáva, čo program vykoná automaticky.

Tabuľka I

Teplotný program stanovenia selénu technikou ETA-AAS

Stupeň	Teplota [$^\circ\text{C}$]	Doba zotrvania na danej teplote [s]	Prietok inertného plynu [l min^{-1}]	Poznámky
Sušenie	85	5	3,0	
Sušenie	95	40,0	3,0	
Sušenie	120	10,0	3,0	
Rozklad	1000	5,0	3,0	
Rozklad	1000	1,0	3,0	
Rozklad	1000	2,0	0,0	
Atomizácia	2600	0,8	0,0	meranie signálu
Atomizácia	2600	2,0	0,0	meranie signálu
Atomizácia	2600	2,0	3,0	čistenie kyvety

Linearita metódy sa hodnotila ako jej schopnosť poskytnúť v definovanom intervale výsledky úmerné koncentrácii¹². Určila sa maximálna dovolená odchýlka od priemernej relatívnej odozvy, ktorá sa znázornila v programe aj graficky ako dolná a horná hranica prijateľnej hodnoty relatívnej odozvy. Linearita metódy bola zabezpečená po ten bod, po ktorý relatívna priemerná odozva ležala medzi dolnou a hornou hranicou prijateľnej hodnoty relatívnej priemernej odozvy.

Pre vyhodnotenie výsledkov metódou štandardného prídavku sa medza detekcie počítala ako trojnásobok a pri stanovení medze stanoviteľnosti ako desaťnásobok smerodajnej odchýlky slepých vzoriek.

Pre vyhodnotenie výsledkov metódou kalibračnej krivky sa medza detekcie a medza stanoviteľnosti počítali z hornej hranice pásu spoľahlivosti, tzv. „upper limit approach“ (ULA, cit.¹³). Podmienkou bolo ekvidistantné rozdelenie koncentrácií.

Pre výpočet medze detekcie platí:

$$\text{LOD} \equiv c_D = k_D \cdot s_y / m \quad (2)$$

k_D je tabelovaná hodnota pre $(n - 2; 0,01)$ v kalibračnej závislosti tvaru $y = b + mc$, resp. pre $(n - 1; 0,01)$ v kalibračnej závislosti tvaru $y = mc$, s_y je reziduálna smerodajná odchýlka.

Pre výpočet medze stanoviteľnosti platí:

$$\text{LOQ} = 3 \cdot \text{LOD} \quad (3)$$

Všetky výpočty popísaných validačných charakteristík sa vykonali v programe Excel pomocou výpočtových tabuliek vytvorených na tento účel, ktoré umožnia všestranné využívanie možností programu pri laboratórnych výpočtoch. Zostavené výpočtové tabuľky umožnia požadované výpočty validačných charakteristík z nameraných dát so slovným hodnotením požiadavky tak, aby dali jednoznačnú odpoveď užívateľovi o ďalšej nutnej činnosti.

Všetky vypočítané a jednotlivito hodnotené validačné charakteristiky sa premietli do jednej tabuľky, v ktorej sa na základe výsledkov hodnotenia jednotlivých validačných charakteristík hodnotila validácia ako celok¹⁴.

Štandardná neistota merania sa počítala ako rozšírená kombinovaná neistota podľa dokumentov Eurachem z programu Metro2003, verzia 3.02 (cit.¹⁵).

Analýzovaný materiál

Na analýzy sa použili vzorky čerstvých a sušených rajčín a kapusty. Vzorky zeleniny sa odoberali z výskumných políček Výskumného ústavu zeleninárskeho v Nových Zámkoch, resp. z obchodnej siete.

Spracovanie vzoriek

Vzorky zeleniny po očistení sa zhomogenizovali a použili na mineralizáciu, resp. na prípravu sušiny. Sušina sa pripravila sušením čerstvých homogenizovaných vzoriek v sušiarňi pri teplote 80 °C.

Mineralizácia vzoriek: Vzorky čerstvej zeleniny sa priamo navažovali do mineralizačných autoklávov typu

ZA-1 a sušina po homogenizácii v trecej porcelánovej miske. Návažok čerstvej zeleniny bol 10 g, sušiny 1 g. K naváženým vzorkám sušiny sa pridal na zvlhčenie 1 ml deionizovanej vody. Ku vzorkám sa pridal 5 ml konc. HNO₃ a 2 ml H₂O₂. Vzorky sa uzavreli do kovových plášťov mineralizačných autoklávov, a mineralizovali sa v horkovzdušných sterilizátoroch v trvaní 120 min pri teplote 140 °C.

Úprava mineralizátov pre HG-AAS: Po vychladnutí sa mineralizáty kvantitatívne preniesli do 25 ml odmerných baniek, pridal sa 4 ml HCl o koncentrácii 7 mol l⁻¹ a zahrievali 30 min pri 80 °C. Po vychladnutí sa doplnili HCl o koncentrácii 1,7 mol l⁻¹ po rýsku a hneď zmerali. Pre stanovenie obsahu Se v zelenine sa použila metóda štandardných prídavkov. Ako štandardný prídavok sa k naváženým vzorkám pred mineralizáciou pridal 0,25, resp. 0,5 µg Se.

Úprava mineralizátov pre ETA-AAS: Po vychladnutí sa mineralizáty kvantitatívne preniesli do 25 ml odmerných baniek a doplnili deionizovanou vodou po rýsku.

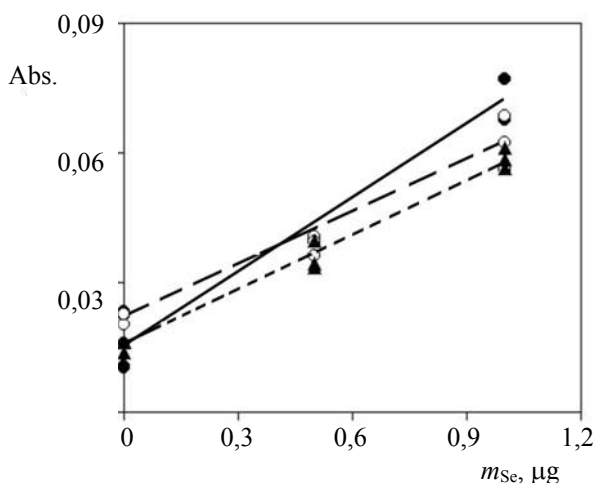
Výsledky a diskusia

Nízke hladiny selénu v zelenine vyžadujú vypracovať takú metódu stanovenia, ktorou je možné reálne sa vyskytujúce koncentrácie bezpečne stanoviť. Dosahovanie vyššej koncentrácie selénu v analyzovanej vzorke zvyšovaním návažky je možné iba do určitej hranice, nad ktorou je mineralizácia vzorky už problematická alebo nemožná. Zakoncentrovanie vzorky môže tiež narážať na technické prekážky, resp. aj na stabilitu analyzovaného materiálu.

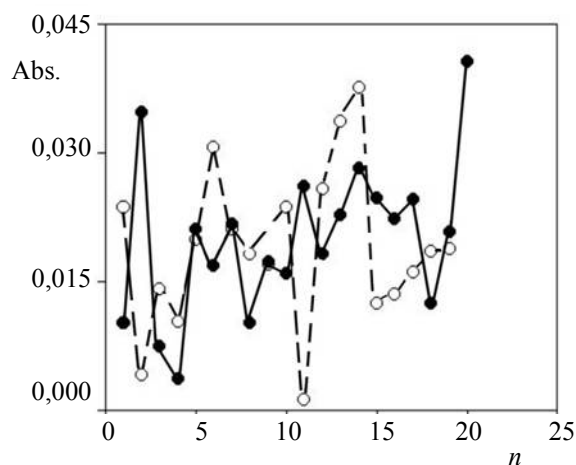
Rôzne zeleninové druhy predstavujú maticu, ktorú nie je možné priamo bez úpravy vzorky analyzovať a ktorá tzv. maticovým efektom môže významne ovplyvniť priebeh analýzy. Nakoľko sa jedná o stanovenie veľmi nízkych koncentrácií, bolo treba použiť metódu s vysokou citlivosťou.

Moderné prístroje AAS sú vybavené technikou lineárnej kalibrácie s počiatkom v bode 0, ako aj s nenulovým úsekom, pričom sa pracuje v „normálnom kalibračnom móde“ s kalibráciou vo vodných roztokoch. Predpokladom použitia tejto techniky je, že metóda musí mať požadovanú výťažnosť a vplyv matrice na výsledok merania musí byť malý¹⁶. Kvôli overovaniu vplyvu matrice sa porovnávali výsledky meraní vzoriek vodných roztokov Se a mineralizátov zelenín so štandardným prídavkom použitím techník ETA-AAS a HG-AAS. Obr. 1 a 2 znázorňujú výsledky meraní, získané dvoma sledovanými technikami.

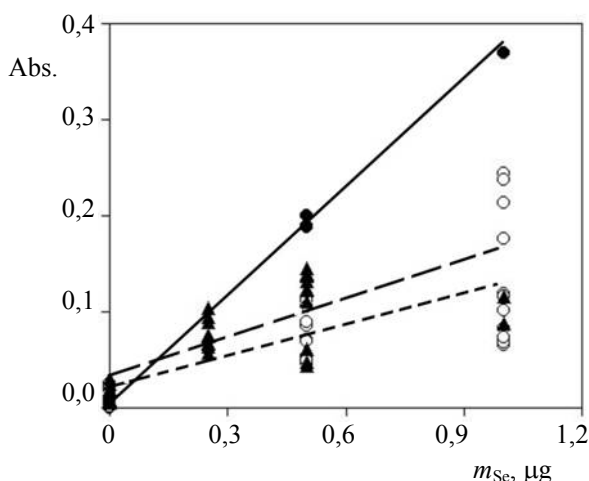
Výsledky analýz zeleninových vzoriek poukazujú na existenciu maticového vplyvu najmä v prípade metódy HG-AAS. Maticový vplyv pri metóde HG-AAS spôsoboval približne polovičnú výťažnosť analýzy. Znamenalo to, že výsledky analýz nebolo možné počítať cez kalibračnú krivku vodného roztoku. K dosahovaniu reálnych výsledkov analýz sa vyhodnotenie vykonávalo metódou štandardného prídavku, a to prídávaním štandardného prídavku do vzorky pred mineralizáciou. Metóda ETA-AAS dávala



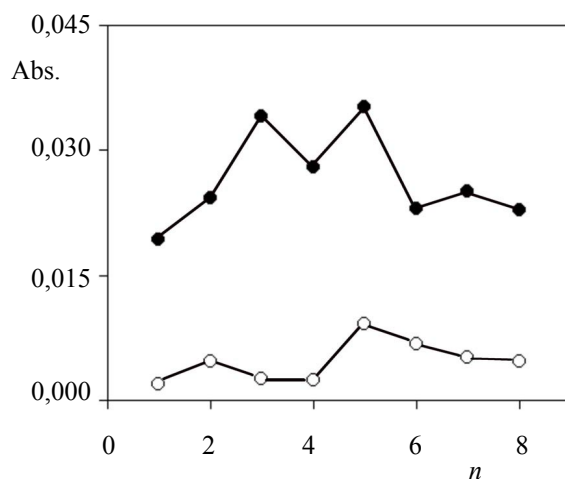
Obr. 1. Vplyv matrice na priebeh kalibračnej závislosti pri meraniach ETA-AAS; ● – vodný roztok, ○ – čerstvé rajčiny, ▲ – sušené rajčiny, m_{Se} štandardný prídavok Se



Obr. 3. Absorbancia slepých vzoriek a vzoriek rajčín pri meraniach ETA-AAS; ● – rajčiny, ○ – slepé vzorky, n počet meraní



Obr. 2. Vplyv matrice na priebeh kalibračnej závislosti pri meraniach HG-AAS; ● – vodný roztok, ○ – čerstvé rajčiny, ▲ – sušené rajčiny, m_{Se} štandardný prídavok Se



Obr. 4. Absorbancia slepých vzoriek a vzoriek rajčín pri meraniach HG-AAS; ● – rajčiny, ○ – slepé vzorky, n počet meraní

len o málo odlišnú smernicu závislosti, čo poukazuje na malý vplyv matrice na výťažnosť stanovenia vzoriek zelenín.

Možnosť stanovenia reálnych koncentrácií Se v analyzovaných vzorkách sa sledovala porovnávaním výsledkov meraní slepých vzoriek s výsledkami meraní reálnych vzoriek. Merania sa vykonali sériami analýz slepých vzoriek a vzoriek rajčín celým analytickým postupom vrátane mineralizácie, tak technikou ETA-AAS, ako aj technikou HG-AAS. Absorbancia merania slepých vzoriek na AAS sa porovnala s hodnotami absorbancie vzoriek rajčín (obr. 3 a 4). Výsledky poukazujú na skutočnosť,

že z dôvodu nízkeho obsahu Se v analyzovanej zelenine, metódou ETA-AAS nie je možné bezpečne rozlíšiť signál slepých vzoriek od signálu analyzovanej zeleniny, čo znamená, že citlivosť metódy za vyššie uvedených podmienok mineralizácie je nedostatočná na stanovovanie Se v zeleninových vzorkách s nízkym obsahom Se.

Iné výsledky dáva metóda HG-AAS. Z obr. 4 vyplýva jednoznačná a po analýze série vzoriek bezpečná rozlíšiteľnosť absorbancie slepých vzoriek od absorbancie vzoriek zelenín. Znamená to, že metóda môže byť úspešne použitá aj na stanovovanie nízkych koncentrácií Se v zelenine.

Tabuľka II
Hodnotenie opakovateľnosti metód stanovenia Se v modelových vodných roztokoch

Počítaný parameter		ETA-AAS	HG-AAS
Aritmetický priemer, mg l ⁻¹	\bar{x}	0,0148	0,0095
Smerodajná odchýlka, mg l ⁻¹	s	0,0011	0,0010
Výberový variačný koeficient, %	$s_R = 100 \cdot s / \bar{x}$	7,49	10,96
Požiadavka	$s_R < 12 \%$	splnená	splnená

Pre účely štatistického porovnania dvoch techník merania (ETA-AAS a HG-AAS) sa pristúpilo k stanoveniu vybraných validačných charakteristík metód v modelových vodných roztokoch. Výsledky validácie metódy ETA-AAS a metódy HG-AAS počítané vo výpočtových tabuľkách v programe Excel sú uvedené v tabuľkách II až IV. Z výsledkov vyplýva, že metóda ETA-AAS sa vyznačuje nižšou hodnotou opakovateľnosti ako metóda HG-AAS, linearita merania bola zabezpečená a potvrdená pri oboch meracích technikách. Zo stanovenia detekčných limitov metód (sú počítané na meraný roztok) vyplýva nižšia hod-

Tabuľka III
Hodnotenie kalibračnej krivky a linearitu metód stanovenia Se v modelových vodných roztokoch

Parametr	Hodnota	
	ETA-AAS	HG-AAS
<i>Hodnotenie posunu kalibračného vzťahu v kalibračnej závislosti^a</i>		
t_{vyp}	2,901	2,645
t_{krit}	2,160	2,160
m , l mg ⁻¹	9,367	13,082
b	0,009	-0,004
<i>Hodnotenie spoľahlivosti regresie^b</i>		
s_y	0,0053	0,0024
$s_{y \text{ rel}}$	3,35	2,14
	kalibrácia je spoľahlivá	kalibrácia je spoľahlivá
<i>Hodnotenie linearitu^c</i>		
	požiadavka na linearitu splnená	požiadavka na linearitu splnená

^a Absorbancia = $f(c)$, pričom c je koncentrácia [mg l⁻¹], Podľa hodnotenia kalibračného vzťahu platí kalibračný model: $y = m \cdot x + b$, ^b požiadavka: $s_{y \text{ rel}} < 5,0$, ^c požiadavka: všetky body relatívnej odozvy

Tabuľka IV
Detekčné limity stanovenia Se v modelových vodných roztokoch

Parametr	Hodnota	
	ETA-AAS	HG-AAS
<i>Hodnotenie posunu kalibračného vzťahu v kalibračnej závislosti^a</i>		
t_{vyp}	2,914	2,645
t_{krit}	2,160	2,160
m , l mg ⁻¹	9,319	13,082
b	0,0093	-0,0039
<i>Hodnotenie spoľahlivosti regresie^b</i>		
s_y	0,0053	0,0024
$k_{D(n-2)}$	2,953	2,953
$k_{D(n-1)}$	2,624	2,624
LOD, mg l ⁻¹	0,0017	0,00049
LOQ, mg l ⁻¹	0,0050	0,00165
	požiadavka je splnená	požiadavka je splnená

^a Absorbancia = $f(c)$, pričom c je koncentrácia [mg l⁻¹], podľa hodnotenia kalibračného vzťahu platí kalibračný model: $y = m \cdot x + b$, ^b požiadavka na dolnú hranicu rozsahu merania (LOQ) $\leq 0,005$

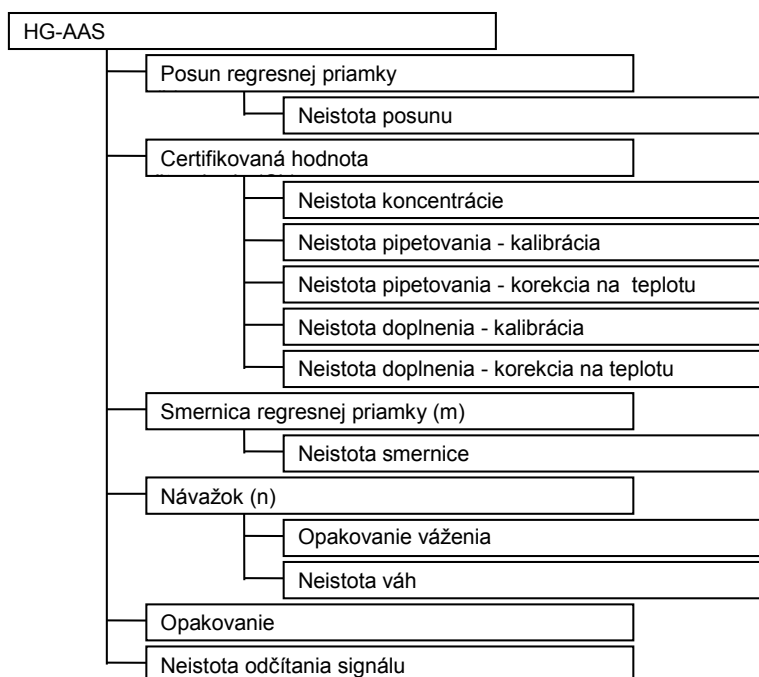
nota medze stanoviteľnosti metódy HG-AAS, čo z pohľadu nízkej koncentrácie Se v zelenine je rozhodujúce. Z uvedeného dôvodu pre analýzu zeleninových vzoriek môže byť úspešne použitá.

Výpočet kombinovanej štandardnej neistoty metódy vyžaduje odhaliť všetky zdroje neistoty počas celého analytického procesu. Program Metro vyžaduje zostrojiť Ishikawov diagram, pomocou ktorého sú jednotlivé neistoty priradené k výsledku stanovenia. Modelový diagram je uvedený na obr. 5. Výsledkom výpočtu je kombinovaná štandardná neistota, ktorú uvádza tabuľka V.

Ako potvrdzujú vyššie uvedené výsledky, na stanovenie Se v zeleninových vzorkách sa osvedčila metóda HG-AAS, preto ďalšie stanovenia sa robili touto metódou.

Tabuľka V
Výsledok stanovenia neistôt v programe Metro2003

Veličina	Se
Hodnota, mg kg ⁻¹	0,0203
Kombinovaná štandardná neistota, mg kg ⁻¹	± 0,0058
Expanzný koeficient	1,96
Pravdepodobnosť, %	95
Počet stupňov voľnosti	1101



Obr. 5. Ishikawov diagram pridelovania neistôt

Tabuľka VI
Overenie správnosti vypracovanej metódy

Použitý referenčný materiál	Certifikovaná hodnota Se [mg kg ⁻¹]	Stanovená hodnota Se [mg kg ⁻¹]	Výťažnosť [%]
SRM 1515 – sušené jablkové listy	0,050	0,045	91,0
CRM (NRC for CRM China) – kapusta	0,083	0,098	118,3
BCR 384 – lyofilizované bravčové mäso	0,183	0,195	106,6

Validita metódy sa overila reálnymi vzorkami cez nasledovné validačné charakteristiky:

- správnosť,
- medza detekcie a medza stanoviteľnosti,
- štandardná kombinovaná neistota.

Nakoľko sa rozhodlo pre metódu vyhodnotenia pomocou štandardných prídavkov (silný vplyv matrice), so stanovením linearitu sa nepočítalo.

Správnosť metódy sa overila analýzou matricových referenčných materiálov (RM). Ako RM sa použili: sušené jablkové listy, kapusta a lyofilizované bravčové mäso (lyofilizované bravčové mäso bolo analyzované ako vzorka s vyššou sušinou a s vyšším obsahom bielkovín, ktorej úspešná analýza dáva predpoklady aj pre stanovenie organicky viazaného Se v rastlinných bielkovinách, pre ktorú úlohu sa popísaná metóda hodlá využívať).

Výsledky analýz uvádza tabuľka VI.

Pre vyhodnotenie výsledkov metódou štandardného

prídavku sa medza detekcie počítala ako trojnásobok a medza stanoviteľnosti ako desať násobok smerodajnej odchýlky slepých vzoriek. Pre výpočet limitných hodnôt metódy zo slepých vzoriek platí: LOD = 0,01044 a LOQ = 0,03480 v signálovej doméne, v prepočte na koncentračnú doménu a na návažok vzorky 10,0 g LOD = 0,00264 mg Se kg⁻¹, resp. LOQ = 0,00904 mg Se kg⁻¹.

Pre stanovenie neistoty metódy platia vyššie uvedené podmienky.

Záver

Porovnaním sledovaných metód stanovenia selénu (ETA-AAS a HG-AAS) sa zistilo, že vo vzorkách zeleniny s nízkym obsahom Se metódou ETA-AAS nie je možné bezpečne rozlíšiť signál slepých vzoriek od signálu analyzovanej zeleniny. Znamená to, že citlivosť tejto metódy je

nedostatočná na stanovovanie Se v zeleninových vzorkách s jeho nízkym obsahom. Metódou HG-AAS sa signál slepých vzoriek bezpečne rozlíši od signálu analyzovanej zeleniny.

Výsledky meraní metódou HG-AAS poukázali na existenciu silného maticového vplyvu, preto výsledky analýz sa neurčovali z kalibračnej krivky vodného roztoku, ale metódou štandardného prídavku.

Výsledky validácie metódy ETA-AAS a metódy HG-AAS počítané vo výpočtových tabuľkách v programe Excel dokazujú, že metóda ETA-AAS sa vyznačuje nižšou hodnotou opakovateľnosti ako metóda HG-AAS, linearita merania bola zabezpečená a potvrdená pri oboch meracích metódach. Zo stanovenia detekčných limitov metód vyplýva nižšia hodnota medze stanoviteľnosti metódy HG-AAS, čo z pohľadu nízkej koncentrácie Se v zelenine je rozhodujúce.

Na stanovenie Se v zeleninových vzorkách sa osvedčila metóda HG-AAS. Analýzou referenčných materiálov (sušené jablkové listy, kapusta a hovädzie obličky) sa zistila 105% priemerná výtlačnosť analýzy, štandardná neistota 28,7 %, LOD = 0,01044 a LOQ = 0,03480 v signálovej doméne. V prepočte na koncentračnú doménu v podmienkach mineralizácie LOD = 0,00264 mg Se kg⁻¹, resp. LOQ = 0,00904 mg Se kg⁻¹.

Táto práca bola podporovaná štátnym podprogramom výskumu a vývoja SR „Potraviny – kvalita a bezpečnosť“ číslo 2003SP270280E010280E01.

LITERATÚRA

- Bajčan D., Žemberyová M., Limek J., Ruriková D.: Chem. Listy 95, 638 (2001).
- Vollmannová A., Tóth T., Tomáš J., Jomová K.: Chem. Listy 97, 801 (2003).
- Baghour M., Moreno D.A., Hernandez J., Castilla N., Romero L.: J. Environ. Sci. Health A 6, 1075 (2002).
- Farkašová I., Žemberyová M.: Chem. Listy 93, 633 (1999).
- Arteel G. E., Sies H.: Environ. Toxicol. Pharm. 4, 153 (2001).
- Maďarič A., Kadřabová J.: Bull. Potravn. Výsk. 1, 11 (1998).
- Velišek J. (ed): *Chemie potravin 2*, str. 97. Osis, Tábor 1999.
- Ursínyová M., Hladíková V.: Chem. Listy 92, 495 (1998).
- Zhenga J., Ohata M., Furuta N., Kosmus W.: J. Chromatogr. 1, 55 (2000).
- Dědina J., Fara M., Koliňová D., Korečková J., Musil J., Plško E., Sychra V.: *Vybrané metody analytické atomové spektrometrie*. Československá spektroskopická společnost – Sekce optické atomové spektroskopie, Praha 1987.
- STN ISO 3534-1: *Štatistika. Slovník a značky – Část 1: Pravdepodobnosť a všeobecné štatistické termíny* (júl 1999).
- Holík M.: *Validace analytických metod (Postup při práci a příprava protokolu se zaměřením na HPLC a TLC)*. Lachema, Brno 1990.
- Mocák J., Bond A. M., Mitchell S., Scollary G.: Pure Appl. Chem. 2, 297 (1997).
- Hegedüs O.: *Konferencia Chemické analýzy pri zabezpečovaní ochrany zdravia obyvateľstva. Donovaly, 2. – 3. októbra 2002*, Zborník, str. 42. Štátny zdravotný ústav v Banskej Bystrici, Banská Bystrica 2002.
- Baričič P., Mackov M.: *Metro2003 (Verzia: 2.30). Laboratorný softvér pre Windows*. Chemmea s.r.o., Bratislava 2003.
- Borošová D.: *Konferencia Chemické analýzy pri zabezpečovaní ochrany zdravia obyvateľstva. Donovaly, 2. – 3. októbra 2002*, Zborník, str. 37. Štátny zdravotný ústav v Banskej Bystrici, Banská Bystrica 2002.

O. Hegedüs^{a,b}, A. Hegedüsová^{b,c}, J. Gašparík^a, and A. Ivičičová^a (^a Regional Authority of Public Health, Nové Zámky, ^b Research Institute of Vegetables, Nové Zámky, ^c Department of Chemistry, Constantine the Philosopher University in Nitra, Slovak Republic): **Evaluation of the ETA-AAS and HG-AAS Methods of Selenium Determination in Vegetables**

Two methods of selenium determination, ETA-AAS and HG-AAS, were compared and evaluated. The following validation parameters were determined: accuracy (under repeatability conditions), trueness, calibration curve and linearity, limit of detection, limit of determination and combined standard uncertainty of the method. The HG-AAS method was more suitable for the determination of low selenium concentrations in vegetables. The results were calculated by the standard addition method because of the strong matrix effect.

ZÁVISLOST VÝNOSU A KVALITY CIBULE KUCHYŇSKÉ NA HNOJENÍ SLOUČENINAMI SÍRY

TOMÁŠ LOŠÁK^a a LADISLAV DUCSAY^b

^a Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, ^b Katedra agrochemie a výživy rostlin, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra
losak@mendelu.cz, ladislav.ducsay@uniag.sk

Došlo 15.3.05, přijato 4.5.2005.

Klíčová slova: síra, cibule, hnojení, dusičnany, cystein, methionin

1. Úvod

Nedílnou součástí pěstitelské technologie cibule kuchyňské (*Allium Cepa*, L.) je výživa rostlin a hnojení. Předpokladem pro dosažení požadované úrovně výnosu a kvality produkce¹ je vyrovnaná bilance všech makro- i mikrobiogenních prvků. Ve výživě cibule si v posledních letech zaslouhuje zvýšenou pozornost obsah sloučenin síry v půdě, protože v některých lokalitách může být v půdě sloučenin síry nedostatek. Má to více důvodů. Především omezené používání minerálních i organických hnojiv a fungicidů, dále pak výrazná redukce emisí SO₂. Nedostatek sloučenin síry se projevuje zvláště u rostlin na síru náročných, kam spadají i cibuloviny. Výnos cibule 35 t ha⁻¹ odčerpá až 22 kg síry², což odpovídá odběru 0,6 kg S t⁻¹.

Rostlina přijímá síru především ve formě síranů z půdního roztoku³. Prvním krokem využití S v rostlině je aktivace síranového iontu (SO₄²⁻). Ten musí být přeměněn enzymem ATP-sulfátadenintransferasou, která nahrazuje dvě fosfátové skupiny ATP sulfurylovou skupinou, což vede k tvorbě adenosinfosulfátu (APS) a pyrofosfátu. Síran APS je výchozí látkou pro zabudování síry do organických sloučenin v rostlině. Inkorporace do organických sloučenin probíhá dvěma způsoby⁴:

Syntézou síranových esterů (cesta 1). Výsledkem reakce je fosfoadenosinfosulfát (PAPS). Tento aktivovaný síran se váže na lipidy, polysacharidy nebo slouží k tvorbě glukosinolátů⁵.

Redukcí síranů (cesta 2). V tomto případě je první stabilní organickou sloučeninou aminokyselina cystein (C₃H₇O₂NS). Z ní vzniká další aminokyselina methionin (C₅H₁₁O₂NS). Redukce síranů probíhá v chloroplastech a je aktivována světlem, což je důležité pro detoxikaci SO₂ v listech⁴.

Síra je dále v rostlině součástí vitamínu B₁ a vitamínu

H, enzymů a koenzymů nebo silic typu alliin a allicin⁶. K dalším sloučeninám obsahujícím síru patří např. glutathion (prekurzor fytochelatinů, které poutají rizikové prvky do chelátových komplexů), ferredoxin, sulfolipidy, aj.⁷. Sekundární metabolity sloučenin síry nemají jen výživnou hodnotu, ale jsou také důležité z hlediska odolnosti zelenin proti chorobám a škůdcům⁸. Sírné komponenty v cibuli typu isoalliinu, cycloalliinu, thiosulfínátu a sulfinyldisulfidu příznivě ovlivňují zdravotní stav člověka. Podporují trávení, působí antianemicky a antiastmaticky a jsou zodpovědné za specifickou vůni a ostrost cibule. Isothiokyanáty se vyznačují rovněž antikarcinogenními účinky¹⁰. Rovněž sírné aminokyseliny mají blahodárný vliv na organismus. Cystein se řadí k neesenciálním aminokyselinám. Je součástí tripeptidu glutathionu, který chrání organismus svými antioxidačními účinky před působením volných radikálů. Cystein dále zpomaluje vývoj aterosklerózy, snižuje stavy hypoglykémie a v kombinaci s vitamínem B₅ ochraňuje klouby před artritidou. Methionin je řazen k esenciálním aminokyselinám a spolu s cysteinem je např. nezbytný pro tvorbu keratinu, působí antibakteriálně a potlačuje infekce močových cest snížením pH moči a rovněž omezuje tvorbu ledvinových kamenů¹¹.

Deficitní výživa rostlin sloučeninami síry může být příčinou i nižšího stupně využití sloučenin dusíku, což ve svém konečném důsledku vede k redukci výnosu¹². Koncentrace dusičnanů je u zeleniny důležitým kvalitativním kritériem, přičemž síra je součástí enzymu nitritreduktasa, který je zodpovědný za redukci NO₂⁻ v chloroplastech¹³. Při nedostatku síry se zvyšuje také riziko nárůstu neproteinového dusíku u rostlin, přičemž může docházet ke zvýšení obsahu nitrátů, které po redukci na nitrity blokují schopnost hemoglobinu přenášet kyslík nebo jsou předstupněm vzniku karcinogenních nitrosaminů⁹.

Účelem založení vegetačního nádobového pokusu s kuchyňskou cibulí bylo posoudit účinnost zvýšeného obsahu sloučenin síry v půdě (tři odstupňovaných hladin síry), při konstantním obsahu sloučenin dusíku, na výnos cibulí, obsah dusičnanů a zastoupení aminokyselin cysteinu a methioninu v cibulích.

Experimentální část

Vegetační pokusy

Vegetační nádobový pokus s cibulí kuchyňskou byl založen na jaře 2004 ve vegetační hale Ústavu agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně. Do Mitscherlichových vegetačních nádob bylo naváženo 6 kg středně těžké zeminy charakterizované jako fluvizem s agrochemickými vlastnostmi uvedenými v tab. I. Zemina vykazovala slabě kyselou půdní reakci (pH), obsah přístupného fosforu a draslíku byl na úrovni dobré zásoby, obsah vápníku vysoký a hořčíku velmi vysoký.

Pokus zahrnoval 3 varianty s různým obsahem síry, přičemž každá z nich byla 4x opakována. Během vegetace byla prováděna pravidelná závlhka demineralizovanou vodou na úroveň 60 % maximální kapilární kapacity, kyp-

Tabulka I

Agrochemická charakteristika zeminy stanovené metodikou Mehlich III

pH	Obsah složky [mg kg ⁻¹]			
	P	K	Ca	Mg
5,85	103	239	3769	366

ření, udržování bezplevelného stavu a ochrana rostlin proti plísni cibulové (*Phytophthora destructor*) přípravkem Acrobat MZ. Sklizeň pokusu následovala v plné zralosti 9.8.2004. Současně byla zjišťována průměrná hmotnost jedné cibule (g), její průměr (mm), koncentrace dusičnanů (mg NO₃⁻ kg⁻¹) a obsah aminokyselin cysteinu a methioninu. Výnosové výsledky byly statisticky vyhodnoceny pomocí analýzy variance a stanovením minimální průkazné difference (LSD_{t,0,05} a LSD_{t,0,01}).

A n a l y t i c k é m e t o d y

Zemina byla extrahována podle Mehlicha III (CH₃COOH, NH₄NO₃, NH₄F, HNO₃ a EDTA). Stanovení obsahu přístupného fosforu ve výluhu bylo provedeno kolorimetricky a obsah přístupného draslíku, hořčíku a vápníku byl stanoven atomovou absorpční spektrofotometrií. Stanovení síranové síry v půdě předcházela extrakce demineralizovanou vodou v poměru 1:5 podle ČSN ISO 11048 po dobu 16 h na rotační třepačce. Vlastní měření bylo prováděno v akreditované laboratoři ÚKZÚZ Brno kapilární zonální elektroforézou (CZE) na přístroji CES-1 (Dionex Corp., USA) s křemennou kapilárou. Aktivita vodíkových iontů se zjišťovala ve výluhu půdy 0,2 M-KCl potenciometricky skleněnou elektrodou proti referenční kalomelové elektrodě.

Nitráty byly stanoveny v čerstvých rostlinách potenciometricky s použitím iontové selektivní elektrody. Aminokyseliny byly indikovány v čerstvé hmotě oxidativní hydrolýzou na analyzátoru „Amino Acid 400“.

Z p ů s o b d á v k o v á n í s l o u č e n í n s í r y

Byly studovány tři úrovně koncentrací. Varianta 1: S₀ – 18,3 mg S-SO₄²⁻ kg⁻¹ (kontrola, přirozený obsah v půdě), varianta 2: S₁ – 40 mg S-SO₄²⁻ kg⁻¹, varianta 3: S₂ – 60 mg S-SO₄²⁻ kg⁻¹. Hladina síranové síry v půdě byla

u variant 2 a 3 navýšena na požadovanou úroveň aplikací síranu amonného (20,5 % N a 24 % S). Dusík byl u všech variant vyrovnán na jednotnou úroveň 0,15 g N na kg zeminy dávkami dusičnanu amonného (34,5 % N). Obě hnojiva byla aplikována do nádob formou závlivky týden před výsadbou cibule, která následovala 14.4.2004. Do každé z nádob bylo vysázeno 5 cibulí odrůdy Štutgartská. Tato odrůda je určena zejména pro pěstování ze sazečky. Barva slupky je zlatožlutá s bílou dužninou a dobrou, ostřejší chutí. Vyniká svojí plastičností, velkým výnosem a dobrou skladovatelností.

V ý s l e d k y a d i s k u s e

Výnosové výsledky pokusu jsou prezentovány v tab. II. Z výsledků je zřejmé, že se zvýšená hladina síranové síry v půdě na úroveň 60 mg S-SO₄²⁻ kg⁻¹ (varianta 3) odrazila na statisticky vysoce průkazném nárůstu hmotnosti jedné cibule o 17,3 % oproti kontrolní variantě (varianta 1) a o 16,2 % oproti nižší hladině síry v půdě (varianta 2). Mezi variantami 1 a 2 nebyly signifikantní difference ve výnosu cibule. Tyto výsledky souhlasí se závěry výzkumu Hluška a spol.¹⁴, který popisuje nárůst výnosu cibule o 29 % po aplikaci 25 kg S ha⁻¹ ve formě síranu amonného. Rovněž Zhang a spol.¹⁵ uvádí pozitivní vliv spojené aplikace sloučenin dusíku a síry u osmi druhů zelenin, přičemž nejvyšší dávka síry neodpovídala vždy nejvyššímu výnosu. Smatanová a spol.¹⁶ prezentuje nárůst výnosu špenátu při dávce dusíku 0,6 g N na nádobu a hladině síry v půdě 30,6 mg S kg⁻¹ o 54,1 %.

S nárůstem hmotnosti cibule se ovšem statisticky průkazně nezvyšoval její průměr v mm (tab. II), ale pravděpodobně byl stimulován růst natě. Koncentrace dusičnanů v cibulích klesala po aplikaci síry signifikantně (P_{0,05}) o 7,5 % u var. 2 až vysoce signifikantně (P_{0,01}) o 31,6 % u var. 3 oproti var. 1, přičemž u žádné z variant nebyl překročen povolený limit dle Vyhlášky Ministerstva zdravotnictví 53/2002 Sb. Tyto výsledky korespondují s poznatky Smatanové a spol.¹⁶, která uvádí pokles koncentrace nitrátů u papriky o 44,1 % při nárůstu obsahu síry v půdě na 30,6 mg S kg⁻¹. Rovněž Schnug⁸ popisuje nárůst obsahu dusičnanů v pletivech zeleniny při akutním deficitu síry. Hnojení zelenin dusíkem z hlediska zvýšeného obsahu nitrátů v závislosti na dávce dusíku a vnějších podmínkách

Tabulka II

Zjištěné hodnoty výnosů cibule ve vegetačních pokusech s různým obsahem síry v půdě a zjištěný obsah dusičnanů v cibulích

Varianta	Obsah síry v půdě [mg S-SO ₄ ²⁻ kg ⁻¹]	Hmotnost jedné cibule		Průměr jedné cibule		Obsah dusičnanů	
		[g]	[rel. %]	[mm]	[rel. %]	[mg NO ₃ ⁻ kg ⁻¹]	[rel. %]
1	18,3	72,1	100,0	57,5	100,0	41,5	100
2	40	72,9	101,1	58,4	101,5	38,4	92,5
3	60	84,6	117,3	59,7	103,8	28,4	68,4
	LSD _{t,0,05}	6,4		3,0		3,0	
	LSD _{t,0,01}	9,8		4,3		4,7	

Tabulka III

Obsah aminokyselin v cibulích ve vegetačních pokusech s různým obsahem síry v půdě

Varianta	Obsah síry v půdě mg S-SO ₄ ²⁻ kg ⁻¹	Cystein		Methionin	
		[g kg ⁻¹]	[rel. %]	[g kg ⁻¹]	[rel. %]
1	18,3	0,80	100,0	0,74	100
2	40	0,88	111,0	0,73	98,6
3	60	0,92	115,0	0,69	93,2
	LSD _{t,0,05}	0,05		0,04	
	LSD _{t,0,01}	0,07		0,06	

je často ovlivněno řadou vnějších faktorů¹⁷.

Koncentraci dusičnanů v rostlinách ovlivňuje především druh pěstované zeleniny, úroveň dusíkatého hnojení, sledovaný orgán rostliny, fáze růstu a koncentrace síry v pletivech. Přitom byla zjištěna negativní lineární korelace mezi koncentrací dusičnanů v pletivech a koncentrací síry v rostlinách. U 19 vzorků zelenin byl prokázán trend poklesu obsahu NO₃⁻ při nárůstu obsahu síry¹⁵.

Hnojení sírou se pozitivně odrazilo především u cysteinu (tab. III), jehož koncentrace narůstala statisticky výsoco průkazně s obsahem síry v půdě o 11–15 % v porovnání s kontrolou (var. 1), což je v souladu se zjištěním Eppendorfa¹⁸ a Smatanové a spol.¹⁶. Rozdíl mezi hladinami S₁ a S₂ nebyl průkazný. V případě methioninu nastal statisticky průkazný pokles jeho koncentrace při nejvyšší hladině síry v půdě u var. 3 (60 mg S-SO₄²⁻ kg⁻¹) oproti zbylým dvěma variantám o 6,8–1,4 %. Tyto výsledky zcela korespondují s poznatky Smatanové a spol.¹⁶, která taktéž zjistila pokles obsahu methioninu u špenátu z 0,76 na 0,66 g kg⁻¹ při nárůstu obsahu síry v půdě ze 7,8 na 30,6 mg S-SO₄²⁻ kg⁻¹ a stejné úrovni dusíkaté výživy (0,9 g N na nádobu).

Závěr

Ve vegetačním nádobovém pokusu s kuchyňskou cibulí byl prokázán pozitivní vliv zvýšeného obsahu síranové síry v půdě na úroveň 60 mg S-SO₄²⁻ kg⁻¹ na výnos cibulí, pokles obsahu dusičnanů a nárůst aminokyseliny cysteinu v cibulích. Průměrná hmotnost jedné cibule byla navýšena o 17,3 % při současném poklesu nežádoucích dusičnanů o 31,6 % a zvýšeném obsahu cysteinu o 15 % v porovnání s kontrolní variantou.

Projekt je součástí výzkumného záměru AF MZLU V Brně, MŠMT CEZ 2.308/98: 432100001.

LITERATURA

- Hlušek J., Richter R., Rigerová L.: *Chemia i inżynieria ekologiczna*, 11, 1383 (2002).
- Fecenko J.: *Agrochémia* 13, 42 (2002).
- Mengel K., Kirkby E. A., v knize: *Principles of plant nutrition*. Int. Potash Institute, Worblaufen-Bern 1978.
- Marschner H., v knize: *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press Limited, London (1995).
- Booth E., Walker K. C., Schnug E.: *Proc. Int. Rape-seed Cong*, Saskatoon 2, 567 (1991).
- Haneklaus S., Hoppe L., Bahadir M., Schnug E., v knize: *Sulphur Metabolism in Higher Plants*, (Cram W. J, ed.). The Hague 1997.
- De Kok L.J., Stulen L., v knize: *Sulphur Nutrition and Assimilation in Higher Plants*, (De Kok L.J., Stulen L., Renneberg H., Brunold C., Rauser W.E., ed.). The Hague 1993.
- Schnug E.: *Sulphur in Agriculture* 14, 3 (1990).
- Paulsen H. M.: předneseno na konferenci *Sulphur Day, FAL Braunschweig, SRN, 10th November 2001*.
- Shaw M., Pither-Joyce M., McManus M., McCallum J.: *Progress in Plant Sulfur Research 1997–2003*, 34, 34 (2003).
- <http://www.hochschulstellenmarkt.de/info/m/me/methionin.html>
- Schnug E.: *Landwirtschaftsverlag* 25, 1 (1993).
- Vetter H.: *VDLUFA-Schriftenreihe* 28, 19 (1988).
- Hlušek J., Richter R., Hřivna L.: *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej im. H. Kollataja w Krakowie nr 349, 64, 121 (1999)*.
- Zhang Jizhen Youhua Ma Ligan, Zhang Chengbao XU Lu Zheng Guohui, Bian Youbing SI Haiyan Wang Lanian Liu: *12th World Fertiliz. Congress of CIEC, Beijing, 3.–9.8.2001, 1*, 1343 (2001).
- Smatanová M., Richter R., Hlušek J.: *Plant, Soil Environ.* 50, 303 (2004).
- Maynard D., Barker A. V., Minotti P. L., Peck N. H.: *Advances in Agronomy* 28, 71 (1976).
- Eppendorfer W.: *Plant Soil* 29, 424 (1968).

Tomáš Lošák^a and Ladislav Dučay^b (^a Department of Agrochemistry, Soil Science, Microbiology and Plant Nutrition, Mendel University of Agriculture and Forestry, Brno, Czech Republic, ^b Department of Agrochemistry and Plant Nutrition, Slovak University of Agriculture, Nitra, Slovakia): **The Effect of Sulfur Fertilisation on Yields and Quality of Onion**

The objective of the pot trial was to estimate the effectiveness of three levels of sulfur in soil at constant nitrogen nutrition on the yields, nitrate contents and cysteine

and methionine contents in onion. The natural level of sulfate sulfur in soil, 18.3 mg kg^{-1} , increased after application of ammonium sulfate to 40 and 60 mg S kg^{-1} . The nitrogen content was levelled with ammonium nitrate to 0.9 g N per pot . The soil level 40 mg S kg^{-1} stabilised onion yields and the methionine level, reduced the nitrate content by 7.5 % and increased the cysteine content by

11 % compared with control. The average weight of an onion in the soil with 60 mg kg^{-1} of sulfate S increased by 17.3 % and, at the same time, the nitrate level decreased by 31.6 %. While the cysteine content increased by 15 %, the methionine content decreased by 6.8 % when compared with control.

DISKUSE

Poznámky k článku E. Julákové o rovnicích, jednotkách a veličinách

[Chem. Listy 99, 250 (2005)]

Velmi jsem přivítal příspěvek E. Julákové týkající se unifikace psaní rovnic, jednotek a veličin, který ocení jistě všichni autoři chemických publikací. S většinou zásad lze souhlasit, avšak chtěl bych upozornit na některé problémy, které souvisí s obdobným vyjadřováním v ČSN a v mezinárodních normách ISO a EN. Kromě toho bych poněkud tvrději vystoupil proti některým tradicím, které autorka jen mírně naacechává.

Především jde o vyjadřování koncentrací. V některých oborech se hmotnostní koncentrace používá zcela běžně, i když má svá omezení (nelze hledat vztahy mezi chemickou strukturou a vlastnostmi látek), avšak mezinárodně tabelované údaje o závadnosti látek jak ve vodě, tak i v ovzduší jsou uváděny téměř výhradně v hmotnostních koncentracích, což se týká i legislativy (jak v ČR tak v zahraničí). Pro tuto koncentraci byla v článku zvolena značka c_m , což je anomálie. Podle ČSN ISO 31-8 (kterou autorka článku rovněž cituje) byla pro hmotnostní koncentraci zavedena značka ρ , protože má stejný rozměr a tudíž stejnou značku jako hustota (objemová hmotnost). To se dodržuje ve většině norem ISO a EN, včetně ČSN a to se týká i některých učebnic středoškolské chemie.

Další dvě připomínky se týkají tzv. tradičních způsobů vyjadřování. Hned na začátku bych chtěl upozornit, že kdybychom trvali na různých tradicích, pak bychom ještě stále měřili v pídicích, sázích a větelích. Týká se to především názvů „látková“ a „molární“ koncentrace. Zde se pořád ještě opatrně našlapuje, ačkoliv terminologicky jde o věc zcela jasnou. Molární veličina je veličina, která je dělená látkovým množstvím (molem) (molární objem, molární energie, molární hmotnost), což však není případ koncentrace. Tato definice je zcela jednoznačná a není důvod pro její nedodržování. Proto by se mělo důsledně hovořit o látkové koncentraci (např. viz opět ČSN ISO 31-8 a další), nebo jen o koncentraci. Naštěstí v mnohých středoškolských učebnicích chemie se již preferuje název látková koncentrace a název molární bývá již jen v závorce (zřejmě proto, aby se někomu náhodou nešláplo na kuří oko). Problém starších názvů, uváděných někdy v závorkách, spočívá v tom, že dokud tyto starší názvy nevyumizí z učebních textů, budou ještě po dlouhou dobu setrvávat v myšlení lidí, kteří nejsou schopni přeorientovat své mozkové závity dostatečně rychle. Příkladem mohou být změny v chemickém názvosloví. Když se začalo hovořit o oxidech a sulfi-

dech, nenacházel jsem v nových chemických textech formulace: oxidy (dříve kysličníky), sulfidy (dříve siričky), hydrogenuhličitany (dříve hydrouhličitany) apod. Rychlý přechod na nové názvosloví znamená, že staré názvosloví musí bezprostředně vymizet z nových chemických textů, aby vymizelo ze zorného úhlu čtenáře (ať studenta nebo staršího učitele či výzkumníka). To se týká i změn v názvosloví organické chemie. Např. jsem zjistil, že již v r. 2001 vyšla v Ostravě učebnice organické chemie pro SPŠCH, kde již byly důsledně aplikovány principy nového názvosloví, včetně koncovek -yn pro uhlovodíky s trojnou vazbou, což pro řadu chemiků je dosud překvapením.

Dalším problémem je „tradiční“ způsob vyjadřování koncentrací odměrných roztoků v analytické chemii, kdy značka M „nahrazuje“ jednotku mol l^{-1} . Je to anomálie, která nemá obdobu v jiných oborech. Jednak značka M znamená mezinárodně molární hmotnost. Na problém správného zápisu tohoto způsobu upozorňuje autorka článku (s pomlčkou, bez pomlčky atd.), což dále celý problém komplikuje. Nic podobného jsem v chemii nenašel a to se týká i norem ISO a EN, kde se zásadně koncentrace odměrných roztoků udávají v mol l^{-1} . Zřejmě přišlo někomu zatěžko vypisovat celou složenou jednotku a např. udat, že roztok měl koncentraci 5 mol l^{-1} . Jak by se asi chemici tvářili na údaj, že pro změnu Gibbsovy energie 100 kJ mol^{-1} se bude užívat zápis 100G, ať s pomlčkou nebo bez pomlčky?!

Článek se naštěstí jen okrajově zmiňuje o tzv. „jednotkách“ ppm a ppb, které vyjadřují hmotnostní nebo objemový poměr $1:10^6$ a $1:10^9$. Byl bych uvítal sdělení, že podle ČSN ISO 31-0 se tyto „jednotky“ nesmí používat, což bohužel v některých oborech není dodržováno. Tyto „jednotky“ jsou zbytečné, protože pouze nahrazují zcela srozumitelné a jednoznačné zápisy v mg kg^{-1} , resp. v ml m^{-3} či v $\mu\text{g kg}^{-1}$, resp. $\mu\text{l m}^{-3}$, takže „pépémovat“ či „pépébovat“ je zcela zbytečné. Číselná hodnota je stejná. Takže to je další příklad zbytečně přetrvávajících „tradic“ (čert aby je vzal).

Ale abych si také pichnul do vlastního hnízda. Německé stupně „tvrdoosti“ vody sice již naštěstí mizejí z odborné hydrochemické literatury (včetně norem ISO), avšak v běžné praxi jsou dosud mimořádně rezistentní, i když uživatelé obvykle nevědí, jak jsou definovány a co vlastně znamenají (něco podobného jako ppm a ppb). Zasluhu na tom mají také výrobci pracích prostředků, kteří se bez „deutsches Härtegrad“ (dH) stále nemohou obejít.

Pavel Pitter, Pavel. Pitter@vscht.cz

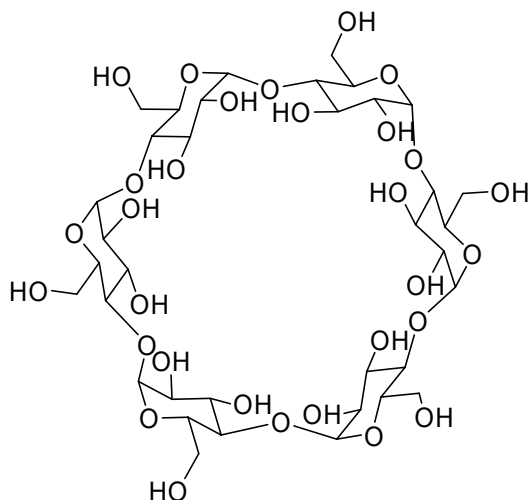


BULLETIN

ASOCIACE ČESKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ

Ročník 36

Číslo 3



Ústřední komise
ÚKCHO
chemické olympiády

Český komitét
ČKCH
pro chemii



ČESKÁ SPOLEČNOST CHEMICKÉHO INŽENÝRSTVÍ
CZECH SOCIETY OF CHEMICAL ENGINEERING



Obsah Chemické listy 2005, číslo 5 a 6

ČÍSLO 5/2005

ÚVODNÍK 297

REFERÁTY

Trendy v totální syntéze alkaloidů 298
J. Hájiček

Oxazolidinové deriváty efedrinu 318
M. Astrová, L. Kurc a L. Červený

Fukosidasy a oligosacharidy obsahující fukosu 324
E. Benešová, M. Marková, P. Lipovová
a B. Králová

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

Charakteristika tlakových fluktuací v různých režimech suspenzí plyn-tuhá látka 330
O. Trnka, M. Hartman a V. Veselý

Stanovení sorpční kapacity sorbentu Tenax TA pro určení koncentrací vybraných organických látek v ovzduší 339
A. Kroupa, I. Viden a S. Vodrážka

Diferenciální permeometr určený k měření propustnosti plynů a par organických látek skrze ploché polymerní membrány 345
L. Hendrich, V. Hynek a M. Šípek

KONFERENCE SIGMA-ALDRICH – SBORNÍK 351

ČÍSLO 6/2005

ÚVODNÍK 401

REFERÁTY

Mikrobiální produkcia palivového etanolu: bakterie alebo kvasinky? 402
M. Rebroš, M. Rosenberg, L. Krištofiková
a R. Stloukal

Úloha anorganických a organických látek při syntéze zeolitů 411
G. Košová

Možnosti přípravy α -diketónov a α -diketónových monomérů 421
J. Mosnáček a I. Lukáč

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

Testování adsorbentů pro odstraňování organických látek z odpadních plynů 431
E. Jurová, K. Ciahotný a K. Lepková

Stanovenie stopových množstiev Co^{2+} v podzemných vodách metodami molekulovej a atómovej spektrometrie po prekoncentracii 437
D. Oktavec, P. Májek, V. Vrábel a J. Lehotay

CHEMICKÝ PRŮMYSL

Komplexní výzkum pyrolýzy uhlovodíků v Chemopetrolu Litvínov 443
T. Herink, Z. Bělohav, P. Zámotný, J. Doskočil,
J. Lederer a P. Svoboda

RECENZE 447

THE CHEMISTRY "EUROBACHELOR"

Version 2005.1

CHEMICKÝ „EUROBAKALÁŘ“

Verze 2005.1



Dvojjazyčná verze je publikována záměrně, neboť anglická je závazná pro terminologii a obsah při akreditaci přihlášených kurzů (akreditační řízení se děje v jazyce anglickém). Překlad sleduje spíše ducha celé akce než rigoróznost ekvivalentů slov. Další informace najde zvidavý čtenář na adrese www.ectn.net a www.eurobachelor.net.

Preamble

As a result of the Bologna Declaration, there are moves under way throughout Europe to revise chemistry degree structures. As decided at the Berlin conference in September 2003, a three cycle structure is to be implemented ("BSc/MSc/PhD"). However, there is no general agreement on introducing the "3-5-8" model which has sometimes been misunderstood as the Bologna "recommendation". The Bologna process is gathering momentum very rapidly and a Bologna first cycle degree as defined by the Helsinki conference in February 2001 will soon be the norm throughout the Bologna area, which now encompasses 45 countries (and stretches from Cork to Vladivostok and from Crete to the North Cape").

Although the Helsinki consensus was that a "bachelor-type" degree should correspond to 180–240 ECTS credits (3–4 years), there are indications that the 180 credit degree will become much more common than the 240 credit degree, so that the Eurobachelor model is based on 180 ECTS credits.

Those institutions which decide on 210 or 240 credits will obviously exceed the Eurobachelor criteria as defined here, but will hopefully use the Eurobachelor framework and define the remaining 30 or 60 credits according to principles which they will lay down (e.g. the Bachelor Thesis may well carry more credits or there may be an extended institution-supervised industrial placement).

In the context of lifelong learning, a first cycle degree can be seen as a landmark of progress in learning, achieved by a student who intends to proceed to a second cycle programme, either immediately or after a short break.

The primary aim of the Eurobachelor qualification is to provide a first cycle degree which will be recognised by other European institutions as being of a standard which will provide automatic right of access (though not right of admission, which is the prerogative of the receiving institution) to chemistry Master programmes.

The goals of a first cycle study programme can be described by the "Budapest" Descriptors developed by the Chemistry Subject Area Group working in the project "Tuning Educational Structures in Europe". They are as follows:

Předmluva

Jako výsledek Boloňské deklarace probíhá v celé Evropě proces úpravy univerzitního (vysokoškolského) studia chemie. Jak bylo rozhodnuto na konferenci v Berlíně v září 2003 má být zavedena struktura studia se třemi cykly (bakalářského/magisterského/doktorského). Ničemně zatím nedošlo k obecné shodě v zavedení modelu „3-5-8“, který je často vykládán jako Boloňské doporučení. Takzvaný Boloňský proces nabývá rychle na významu i intenzitě. První cyklus studia podle Boloňské deklarace tak, jak byl definován konferencí v Helsinkách v únoru 2001, bude velmi brzy považován za standardní v celém „Boloňském prostoru“, který zahrnuje 45 zemí (a rozprostírá se od Corku po Vladivostok a od Kréty po severní pól).

Ačkoli Helsinská úmluva spočívala v tom, že studium bakalářského typu bude odpovídat 180–240 kreditům podle ECTS (3–4 roky), zdá se, že 180 kreditů bude mnohem častějších než 240. Z tohoto důvodu je zde popsán model Eurobakaláře navržený pro schéma s 180 kredity.

Instituce, které se rozhodnou pro 210 nebo 240 kreditů přesáhnou eurobakalářská kritéria, jak jsou definována dále, ale lze předpokládat, že použijí schéma eurobakaláře a budou definovat zbývajících 30 či 60 kreditů podle jeho principů tak, jak jsou dále formulovány (např. bakalářská práce bude mít více kreditů, případně bude rozšířena stáž v praktickém zaměstnání [průmyslu]) organizovaná v rámci univerzitního studia.

V kontextu celoživotního vzdělávání je studium prvního cyklu považováno za mezník v pokroku vzdělání dosažený studentem, který zamýšlí pokračovat do studijního programu v druhém cyklu buď bezprostředně, nebo po určité přestávce.

Prvotní cíl kvalifikace eurobakaláře je poskytnout takové vzdělání v prvním cyklu, jenž by bylo uznáváno jinými evropskými institucemi jako standardní, které dává automatické právo přístupu ke studijním programům na magisterské úrovni (avšak nikoli přijetí, jež je nutně závislé na přijímající instituci).

Cíle prvního cyklu studijního programu mohou být popsány pomocí tzv. Budapeštských deskriptorů, které byly formulovány Skupinou pro chemické předměty v projektu „Tuning Educational Structures in Europe“. Tyto deskriptory jsou následující:

First cycle degrees in chemistry¹ are awarded to students who have shown themselves by appropriate assessment to:

- have a good grounding in the core areas of chemistry: inorganic, organic, physical, biological and analytical chemistry; and in addition the necessary background in mathematics and physics;
- have basic knowledge in several other more specialised areas of chemistry²
- have built up practical skills in chemistry during laboratory courses, at least in inorganic, organic and physical chemistry, in which they have worked individually or in groups as appropriate to the area;
- have developed generic skills in the context of chemistry which are applicable in many other contexts;
- have attained a standard of knowledge and competence which will give them access to second cycle course units or degree programmes.

Such graduates will:

- have the ability to gather and interpret relevant scientific data and make judgements that include reflection on relevant scientific and ethical issues;
- have the ability to communicate information, ideas, problems and solutions to informed audiences;
- have competences which fit them for entry-level graduate employment in the general workplace, including the chemical industry;
- have developed those learning skills that are necessary for them to undertake further study with a sufficient degree of autonomy.

Although the UK and Ireland have well-established bachelor degrees, the concepts of honours or pass degrees are not incorporated in the Eurobachelor model for the BSc in chemistry, as these are not well understood in continental Europe and probably also not easily transferable.

Before presenting the model in detail, it seems advisable to list the options which should be available to any young chemist who obtains a Eurobachelor qualification in chemistry. As stated in the Bologna declaration, this qualification should be relevant to the European labour market, the emphasis lying here on the word "European". Thus it is necessary that the degree become an accepted qualification in all countries which are signatories to the Bologna/Prague/Berlin agreements.

The chemistry Eurobachelor should, provided that his/her performance has been of the required standard, be able to continue his/her tertiary education either at his/her degree-awarding institution, at another equivalent institution in his/her home country, or at an equivalent institution in another European country. (At a later stage one can hope that world-wide acceptance of the Eurobachelor qualification will come into being). This continuation may

¹ A Eurobachelor qualification

² Such as computational chemistry, materials chemistry macromolecular chemistry, radiochemistry

Prvý cyklus vzdělání v chemii¹ je řádně ukončen studenty, kteří prokázali řádným zkušebním postupem, že:

- mají dobré základy vzdělání v základních disciplínách chemie: anorganické, organické, fyzikální, biologické a analytické chemii; a k tomu náležitý základ v matematice a fyzice (*biologická chemie není biochemie, je myšlena molekulární nauka [chemie] o živých systémech, bez mikrobiologie, biologie atp.*);
- mají základní znalosti v některých specializovanějších disciplínách chemie;
- mají návyky praktických dovedností v chemii z laboratorních cvičení, přinejmenším v anorganické, organické a fyzikální chemii jak z individuální tak skupinové práce tak, jak je v dané oblasti obvyklé;
- mají návyky obecných dovedností ve vztahu k chemii, jenž jsou však použitelné i v kontextu jiných oborů;
- získali standard znalostí a dovedností, které jim poskytnou přístup ke studijním programům druhého cyklu či jeho částem.

Tito absolventi budou:

- mít schopnost shromažďovat a interpretovat relevantní vědecké údaje a činit závěry, které budou odrážet odpovídající vědecké a etické hodnoty;
- mít schopnost sdělit informace, myšlenky, problémy a řešení informovanému publiku;
- mít kvalifikaci, schopnosti a dovednosti, které je zařadí mezi vysokoškoláky - bakaláře na trhu práce včetně chemického průmyslu;
- mít rozvinuté ty studijní schopnosti, které jsou potřebné k tomu, aby mohli dále studovat s dostatečnou mírou samostatnosti.

I když např. ve Velké Británii a Irsku jsou dobře zavedena bakalářská studia, jejich koncepce v kategorii prostého absolvování nebo absolvování s vyznamenáním není vtělena do modelu eurobakalářského studia v chemii, neboť ne vždy je správně pochopena v kontinentální Evropě a je tudíž těžko přenositelná;

Před uvedením detailního popisu modelu je vhodné vyjmenovat náležitosti, které musí být k dispozici kterémukoliv mladému chemikovi k tomu, aby získal kvalifikaci eurobakaláře. Jak je uvedeno v Boloňské deklaraci, tato kvalifikace by měla odpovídat evropskému trhu práce se zdůrazněním slova „evropskému“. Tudíž je nezbytné, aby tento druh studia byl uznávaným kvalifikačním stupněm ve všech zemích, které podepsaly dohody v Boloni, Praze a Berlíně o bakalářském studiu.

Eurobakalář chemie musí mít možnost, za předpokladu, dosažení požadované úrovně, pokračovat ve vzdělávání na třetím stupni ať již na své mateřské univerzitě, nebo na podobné instituci doma, nebo na podobné instituci v jiné evropské zemi. (V pozdější etapě lze doufat, že kvalifikace eurobakaláře bude uznávána na celém světě). Tato návaznost může být okamžitá, nebo, v závislosti na individuálním požadavku, může nastat po určité době,

¹ Eurobakalář v oboru chemie

² Jako např. výpočetní, materiálová, makromolekulární chemie a radiochemie

either be immediate or, depending on the career planning of the individual, may take place after an intermediate period, for example in industry.

This continuation will often take the form of a course leading to an MSc degree, either in chemistry or in related fields. However, European institutions should pay regard to possibilities for providing "high flyers" with a direct or (perhaps more often) indirect transition to a PhD course.

It must be made clear at the outset that each institution providing Eurobachelor-type degree programmes in chemistry is completely free to decide on the content, nature and organisation of its courses or modules. Chemistry degree programmes offered by individual institutions will thus logically have their own particular characteristics. The depth in which individual aspects are treated will vary with the nature of specific chemistry programmes.

It is of pre-eminent importance that institutions offering Eurobachelor qualifications aim for high standards, so as to give their students good chances in the national or international job market as well as a good starting point to transfer to other academic programmes should they wish to do so.

Employability

According to the Bologna declaration "The degree awarded after the first cycle shall also be relevant to the European labour market as an appropriate level of qualification". This statement has led to discussion in many countries regarding employability of first cycle degree holders, particularly in those countries which have previously been used to long five-year first degrees.

Although subject knowledge is one criterion for employability, other competences and skills gained during the degree course are vital outcomes of an academic training. These can be divided into generic and subject-related competences and skills, and while what follows refers to chemistry-related outcomes, the generic competences identified in the project "Tuning Educational Structures in Europe", which are part of any chemistry first-cycle degree training, are listed in the Appendix to this proposal.

Outcomes: General

The United Kingdom Quality Assurance Agency (QAA) has published useful "benchmarks" which provided a starting point for our discussions. It was not the intention of the QAA to "define a chemistry degree" but to provide a set of factors which should be considered by institutions when setting up degree programmes. Similarly, the outcomes listed below are intended to be indicative, rather than a prescription to be adopted word-by-word across all chemistry degree programmes. In modifying the QAA benchmarks, two aspects were particularly considered:

The benchmarks were written for an English BSc Honours degree, identified by QAA as a first cycle degree and yet

například po určité době zaměstnání v praxi.

Návaznost bude nejčastěji směřovat do magisterského studia chemie či příbuzných oborů. Nicméně evropské instituce by měly věnovat pozornost i takové možnosti, kdy by nejlepší studenti mohli přejít přímo nebo po určité době či nepřímo (což bude zřejmě častější) do studia doktorského.

Musí být již od počátku jasno, že každá instituce, která nabídne eurobakalářský typ studia v chemii, je naprosto svobodná v rozhodování o otázkách obsahu, povahy a organizaci svých kurzů a modulů. Chemické studijní programy nabízené různými institucemi budou mít logicky každý svůj individuální charakter. Hloubka probírané látky bude rozdílná podle povahy, tradice a specifiky chemických studijních programů.

Jedním z nejdůležitějších předpokladů je, že instituce nabízející kvalifikaci eurobakaláře budou usilovat o vysoký standard, aby poskytly studentům dobrou šanci pro uplatnění na domácím i mezinárodním trhu práce, ale také i dobrý výchozí bod pro jejich přechod do jiných vzdělávacích programů podle jejich volby.

Zaměstnatelnost (uplatnění absolventů)

Podle Boloňské deklarace: „Titul udělovaný po prvním cyklu musí také odpovídat evropskému trhu práce jako náležitá kvalifikační úroveň“. Tento výrok vedl k diskusi v řadě zemí stran zaměstnatelnosti bakalářů, zejména v těch zemích, kde byli zvyklí na pětileté vysokoškolské studium.

I když jsou předmětové znalosti jedním z kritérií pro zaměstnatelnost, jsou i další dovednosti a schopnosti získané během studia životně důležitými aspekty vysokoškolského vzdělání. Mohou být rozděleny mezi obecné a předmětově orientované dovednosti a schopnosti. Pokud se týká dále uváděných chemicky orientovaných výsledků studia, uvádíme jako přílohu tohoto návrhu obecné schopnosti (které jsou součástí kteréhokoliv chemického studijního programu v prvním cyklu) pojmenované v projektu „Tuning Educational Structures in Europe“.

Výsledky studia: obecné

Quality Assurance Agency (QAA) ve Velké Británii publikovala užitečná kritéria, která byla výchozím bodem pro další diskuse. Záměrem QAA nebylo „definovat chemický studijní program“, ale poskytnout soubor faktorů, které by měly být zváženy danou institucí při jeho tvorbě. Podobně výsledky studia vyjmenované dále v textu jsou zamýšleny spíše jako návodné než jako předpis, který bude aplikován slovo od slova ve všech chemických studijních programech. Při modifikaci kritérií QAA byly vzaty v potaz dva základní aspekty:

Kritéria byla vytvořena pro britský absolventský titul „BSc Honours“, jenž byl označen QAA jako titul prvního cyklu,

leading directly to enrolment on a doctoral programme. The Eurobachelor is intended only to prepare for entry to the second cycle, and some benchmarks have been deleted because they were considered more appropriate to the second cycle.

The benchmarks are intended to support education and employability, and it is recognised that many chemistry graduates obtain employment outside the discipline. The recent Tuning Project survey of employers and graduates in employment shows the importance of those outcomes which look beyond knowledge and recall of chemistry. Some additions have been made in the light of the results of this survey.

Outcomes: Subject Knowledge³

It is suggested that all programmes ensure that students become conversant with the following main aspects of chemistry:

- a) Major aspects of chemical terminology, nomenclature, conventions and units
- b) The major types of chemical reaction and the main characteristics associated with them
- c) The principles and procedures used in chemical analysis and the characterisation of chemical compounds
- d) The principal techniques of structural investigations, including spectroscopy
- e) The characteristics of the different states of matter and the theories used to describe them
- f) The principles of quantum mechanics and their application to the description of the structure and properties of atoms and molecules
- g) The principles of thermodynamics and their applications to chemistry
- h) The kinetics of chemical change, including catalysis; the mechanistic interpretation of chemical reactions
- i) The characteristic properties of elements and their compounds, including group relationships and trends within the Periodic Table
- j) The structural features of chemical elements and their compounds, including stereochemistry
- k) The properties of aliphatic, aromatic, heterocyclic and organometallic compounds
- l) The nature and behaviour of functional groups in organic molecules
- m) Major synthetic pathways in organic chemistry, involving functional group interconversions and carbon-carbon and carbon-heteroatom bond formation
- n) The relation between bulk properties and the properties of individual atoms and molecules, including macromolecules (both natural and man-made), polymers and other related materials
- o) The structure and reactivity of important classes of biomolecules and the chemistry of important biological processes.

³ This section is derived from the chemistry subject benchmark published by the UK Quality Assurance body QAA.

který vede k přijetí do doktorského studia. Eurobakalář je zamýšlen pouze jako příprava na vstup do cyklu druhého; tudíž některá kritéria nebyla použita, neb se lépe hodí do cyklu druhého.

Kritéria mají podporovat vzdělání a zaměstnatelnost odpovídat možnosti, že absolventi studia získají zaměstnání i mimo obor, který studovali. Současný přehled zpracovaný projektem „Tuning“ o zaměstnavatelích a zaměstnaných absolventech ukazuje důležitost těchto ukazatelů, které přesahují hranice znalostí a vědomostí z chemie. Některé aspekty byly doplněny na základě výsledků tohoto průzkumu.

Výsledky studia: Znalost předmětu³

Doporučuje se, aby student získal zběhlost v následujících hlavních aspektech chemie:

- a) Hlavní aspekty chemické terminologie, názvosloví, konvencí a jednotek.
- b) Hlavní typy chemických reakcí a důležité charakteristické rysy, jimiž se vyznačují.
- c) Principy a postupy používané v chemické analýze a charakterizaci chemických sloučenin.
- d) Základní techniky strukturní analýzy včetně spektroskopii.
- e) Vlastnosti různých stavů hmoty a teorie, které je popisují.
- f) Principy kvantové mechaniky a jejich aplikace na popis struktury a vlastností atomů a molekul.
- g) Principy termodynamiky a její aplikace na chemii.
- h) Kinetika chemických přeměn včetně katalýzy, mechanistické interpretace chemických reakcí.
- i) Charakteristické vlastnosti prvků a jejich sloučenin včetně skupinových vztahů v rámci periodické tabulky prvků.
- j) Strukturní vlastnosti chemických prvků a jejich sloučenin, včetně stereochemie.
- k) Vlastnosti alifatických, aromatických, heterocyklických a organokovových sloučenin.
- l) Povaha a vlastnosti funkčních skupin v organických molekulách.
- m) Hlavní metody syntéz organické chemie včetně vzájemných obměn funkčních skupin a tvorby vazeb uhlík-uhlík a uhlík-heteroatom.
- n) Vztahy mezi makroskopickými vlastnostmi a vlastnostmi jednotlivých atomů a molekul, včetně makromolekul (přírodních i umělých), polymerů a dalších podobných materiálů.
- o) Struktura a reaktivita důležitých skupin biomolekul a chemie důležitých biologických procesů.

³ Tento oddíl je odvozen z kritérií zpracovaných pro chemická studia britskou QAA.

Outcomes: Abilities and Skills¹

At Eurobachelor level, students are expected to develop a wide range of different abilities, skills and competences.

These may be divided into three broad categories:

- 1) Chemistry-related cognitive abilities and competences, i.e. abilities and competences relating to intellectual tasks, including problem solving;
- 2) Chemistry-related practical skills, e.g. skills relating to the conduct of laboratory work;
- 3) Generic competences that may be developed in the context of chemistry and are of a general nature and applicable in many other contexts.

The main abilities and competences that students are expected to have developed by the end of their Eurobachelor programme in chemistry, are as follows.

1. Chemistry-related cognitive abilities and competences

- 1.1. Ability to demonstrate knowledge and understanding of essential facts, concepts, principles and theories relating to the subject areas identified above.
- 1.2. Ability to apply such knowledge and understanding to the solution of qualitative and quantitative problems of a familiar nature.
- 1.3. Competences in the evaluation, interpretation and synthesis of chemical information and data.
- 1.4. Ability to recognise and implement good measurement science and practice.
- 1.5. Competences in presenting scientific material and arguments in writing and orally, to an informed audience.
- 1.6. Computational and data-processing skills, relating to chemical information and data.

2. Chemistry-related practical skills

- 2.1. Skills in the safe handling of chemical materials, taking into account their physical and chemical properties, including any specific hazards associated with their use.
- 2.2. Skills required for the conduct of standard laboratory procedures involved and use of instrumentation in synthetic and analytical work, in relation to both organic and inorganic systems.
- 2.3. Skills in the monitoring, by observation and measurement, of chemical properties, events or changes, and the systematic and reliable recording and documentation thereof.
- 2.4. Ability to interpret data derived from laboratory observations and measurements in terms of their significance and relate them to appropriate theory.
- 2.5. Ability to conduct risk assessments concerning the use of chemical substances and laboratory procedures.

3. Generic competences

- 3.1. The capacity to apply knowledge in practice, in particular problem-solving competences, relating to both qualitative and quantitative information.
- 3.2. Numeracy and calculation skills, including such aspects as error analysis, order-of-magnitude estimations, and

Výsledky studia: Schopnosti a dovednosti¹

Na úrovni eurobakaláře se očekává, že si studenti osvojí širokou škálu různých kvalifikací, schopností, dovedností a návyků.

Tyto můžeme rozdělit do tří širších kategorií:

- 1) Chemicky orientované kognitivní schopnosti a dovednosti, tj. schopnosti a dovednosti vztahující se k intelektuálním otázkám včetně řešení problémů;
- 2) Chemicky orientované praktické dovednosti, jako např. dovednost vykonávat laboratorní práci;
- 3) Obecné dovednosti, které mohou být získány v kontextu chemie a jsou obecné povahy a použitelné v řadě jiných souvislostí, případně oblastí.

Hlavní schopnosti a dovednosti, které podle předpokladu studenti získají do skončení eurobakalářského studia chemie, jsou:

1. Chemicky orientované kognitivní schopnosti a dovednosti

- 1.1. Schopnost prokázat znalost a pochopení základních faktů, koncepcí, principů a teorií, které se vztahují k předmětným oblastem uvedeným výše.
- 1.2. Schopnost použít takové znalosti a vědomosti k řešení kvalitativních a kvantitativních problémových úloh známé povahy.
- 1.3. Schopnosti a dovednosti pro vyhodnocení, interpretaci a syntézu chemických informací a dat.
- 1.4. Schopnost rozeznat a použít správné měření, odbornou práci a postup.
- 1.5. Schopnost a dovednost přednést vědecký materiál a argumenty písemně i ústně před věcí znalým publikem.
- 1.6. Počítačově orientované dovednosti pro výpočty a zpracování dat se vztahem k chemické informatice a datům.

2. Chemicky orientované praktické dovednosti

- 2.1. Dovednost bezpečně zacházet s chemickými látkami s ohledem na jejich fyzikální a chemické vlastnosti včetně specifických rizik plynoucích z jejich používání.
- 2.2. Dovednosti požadované k provádění standardních laboratorních postupů a používání přístrojů při syntetické a analytické práci ve vztahu k organické i anorganické oblastí.
- 2.3. Dovednosti ve sledování, chemických vlastností, dějů a změn, jak pozorováním tak měřeními a v jejich systematickém, odpovědném a věrohodném zaznamenávání a dokumentaci.
- 2.4. Schopnost interpretace dat odvozených od laboratorních pozorování a měření v závislosti na jejich významu a jejich vztahu k příslušným teoriím.
- 2.5. Schopnost provádět posouzení rizika plynoucího z použití chemických látek a laboratorních postupů.

3. Obecné dovednosti a kvalifikace

- 3.1. Schopnost aplikovat znalosti v praxi, zejména při uplatnění dovedností řešit problémy a otázky se vztahem ke kvalitativním i kvantitativním informacím.
- 3.2. Znalost matematiky a výpočetní dovednosti včetně takových aspektů jako analýza chyb, odhady řádů a správné

correct use of units.

3.3 Information management competences, in relation to primary and secondary information sources, including information retrieval through on-line computer searches.

3.4 Ability to analyse material and synthesize concepts.

3.5 The capacity to adapt to new situations and to make decisions.

3.6 Information-technology skills such as word-processing and spreadsheet use, data-logging and storage, subject-related use of the Internet.

3.7 Skills in planning and time management.

3.8 Interpersonal skills, relating to the ability to interact with other people and to engage in team-working.

3.9 Communication competences, covering both written and oral communication, in one of the major European languages (English, German, Italian, French, Spanish) as well as in the language of the home country.

3.10 Study competences needed for continuing professional development. These will include in particular the ability to work autonomously

3.11 Ethical commitment.

Content

It is highly recommended that the Eurobachelor course material should be presented in a modular form, whereby modules should correspond to at least 5 credits. The use of double or perhaps triple modules can certainly be envisaged, a Bachelor Thesis or equivalent probably requiring 15 credits. Thus a degree course should not contain more than 34 modules, but may well contain less. It must be remembered that 34 modules require more than 10 examinations per year.

Apart from the Bachelor Thesis⁴, which will be the last module in the course to be completed, it appears logical to define modules as being compulsory, semi-optional (where a student is required to select one or more modules from a limited range), and elective (where the student may choose one or modules from a normally much wider range).

While institutions should be encouraged to break down the traditional barriers between the chemical sub-disciplines, we realise that this process will not always be rapid. Thus we retain the traditional classification in what follows.

Compulsory chemistry modules will deal with the main sub-disciplines:

- Analytical chemistry
- Inorganic chemistry
- Organic chemistry
- Physical chemistry

⁴ This can be defined as a research project, the results of which will be presented in the form of a written report. This report may be subject to examination and will in any case be graded.

používání jednotek.

3.3. Dovednost získávat informace z primárních i sekundárních informačních zdrojů a zacházet s nimi včetně použití počítačové techniky připojené k zdrojům těchto informací.

3.4. Schopnost analyzovat informace a syntetizovat koncepce.

3.5. Schopnost adaptace na nové situace a schopnost přijímat rozhodnutí.

3.6. Dovednosti v informačních technologiích a práce s počítačovou technikou jako práce s textovým a tabulkovým editorem, práce s daty a jejich uchování a předmětově orientované použití Internetu.

3.7. Dovednost a schopnost plánování a hospodaření s časem.

3.8. Dovednosti zvládnout mezilidské vztahy ve smyslu schopnosti komunikace s ostatními a k jejich získání do týmové práce.

3.9 Komunikační schopnosti pokrývající jak psanou tak mluvenou komunikaci v jednom z hlavních evropských jazyků (angličtina, němčina, italština, francouzština a španělština) stejně jako v jazyce země ve které má trvalý pobyt.

3.10. Studijní kvalifikace potřebné pro pokračování profesionálního rozvoje. Tyto zahrnou také schopnost samostatné práce.

3.11 Schopnost řídit se etikou oboru.

Obsah studia

Velmi se doporučuje, aby se učební látka eurobakalářského studia zformovala do modulů, kde by moduly odpovídaly alespoň 5 kreditům. Lze předpokládat použití i dvojitých či trojitých modulů, např. pro bakalářský projekt zakončený diplomovou prací se předpokládá 15 kreditů. Tudíž by bakalářské studium nemělo obsahovat více než 34 modulů, ale může to být méně. Je nutno mít na mysli, že 34 modulů vyžaduje více než 10 zkoušek za rok.

Kromě bakalářského projektu, zakončeného diplomovou prací⁴, jenž bude posledním modulem studia, se zdá být logické definovat moduly jak povinné, povinně volitelné (kde je student povinen vybrat si jeden nebo více modulů z určitého počtu) a volitelné (kde si student může vybrat jeden nebo více modulů z běžné široké nabídky).

Za situace, kdy se doporučuje, aby instituce stíraly bariéry mezi tradičními chemickými subdisciplínami, je zřejmé, že taková změna nebude rychlá. Zde proto zůstáváme u tradiční klasifikace.

Povinné chemické moduly musí obsahovat hlavní subdisciplíny:

- Analytická chemie
- Anorganická chemie
- Organická chemie
- Fyzikální chemie

⁴ Může být definována jako výzkumný projekt jehož výsledky jsou předloženy formou písemné zprávy. Tato zpráva může být předmětem zkoušení a v každém případě je známkována.

- Biological chemistry.

Depending on the staff structure of the department, semi-optional modules will deal with sub-disciplines such as:

- Computational chemistry
- Chemical technology
- Macromolecular chemistry
- Biochemistry
- Biophysics.

Non-chemical modules will deal with mathematics, physics and biology. It can be expected that there will be compulsory mathematics and physics modules.

Practical courses may be organised as separate modules or as integrated modules. Both alternatives have advantages and disadvantages: if they are organised as separate modules, the practical content of the degree course will be more transparent. Integrated modules offer better possibilities for synchronising theory and practice.

Modules corresponding to a total of at least 150 credits (including the Bachelor Thesis) should deal with chemistry, physics, biology or mathematics.

Projects leading to the Bachelor Thesis could well involve teamwork, as this is an important aspect of employability which is often neglected in traditional chemistry degree courses.

Students should be informed in advance of the expected learning outcomes for each module.

Distribution of credits

Each individual institution will of course make its own decision as to the distribution of credits between compulsory, semi-optional and elective modules. It will however be necessary to define a "core" in the form of a recommended minimum number of credits for the main sub-disciplines as well as for mathematics and physics. This "core" should neither be too large nor too small, and a volume of 50 % of the total number of credits, i.e. 90 out of 180, seems a good compromise in view of the different philosophies present in Europe. These 90 credits will cover the following areas:

- Analytical chemistry
- Inorganic chemistry
- Organic chemistry
- Physical chemistry
- Biological chemistry
- Physics
- Mathematics

In other words, the 90 credits form the "core" of the degree course.

As far as semi-optional modules in chemistry are concerned, it is recommended that the student should study at least three additional chemistry-related sub-disciplines, depending on the structure of the department: examples are biology, theoretical/computational chemistry, chemical technology, macromolecular chemistry. Each of these should correspond to at least 5 credits.

- Biologická chemie (*viz pozn. výše*)

V závislosti na struktuře učitelů v daném místě musí povinně volitelné moduly obsahovat subdisciplíny jako:

- Výpočetní chemie
- Chemická technologie
- Makromolekulární chemie
- Biochemie
- Biofyzika

Nechemické moduly budou zahrnovat matematiku, fyziku a biologii. Lze očekávat, že moduly pro matematiku a fyziku budou povinné.

Praktická cvičení mohou být organizována jako oddělené moduly či být integrována. Obě alternativy mají své přednosti a nedostatky: jsou-li organizovány jako oddělené moduly, je praktický obsah celého studijního programu mnohem průhlednější. Integrované moduly umožňují lepší synchronizaci teorie a praxe.

Moduly, které obsahují dohromady 150 kreditů (včetně bakalářského projektu a práce) musí být z chemie, fyziky, biologie a matematiky.

Projekty vedoucí k diplomové práci by měly obsahovat prvky týmové práce, neboť to je důležitý aspekt, pro zaměstnatelnost, který byl často zanedbáván v tradiční výuce chemie.

Studenti by měli být předem informováni o očekávaném studijním přínosu každého modulu.

Rozdělení (přirazení) kreditů

Každá jednotlivá instituce bude ovšem činit individuální rozhodnutí v rozložení kreditů mezi povinné, povinně volitelné a volitelné moduly. Je však nutno definovat „jádro“ studia ve formě minimálního doporučeného počtu kreditů pro hlavní subdisciplíny, a pro matematiku a fyziku. Toto jádro nemůže být ani malé ani velké a hodnota 50 % celkového počtu kreditů, tj. 90 z 180 se jeví jako účelný kompromis v pohledu různých přístupů ve všech částech Evropy. Těchto 90 kreditů pokryje následující oblasti:

- Analytická chemie
- Anorganická chemie
- Organická chemie
- Fyzikální chemie
- Biologická chemie (*pozn. viz výše*)
- Fyzika
- Matematika

Jinými slovy, 90 kreditů tvoří jádro studijního programu.

Pokud se týká povinně volitelných modulů v rámci chemie, je doporučeno, aby student studoval alespoň tři další chemicky orientované subdisciplíny v závislosti na struktuře a orientaci školy: příkladem budiž biologie, teoretická a výpočetní chemie, chemická technologie, makromolekulární chemie. Každý z těchto předmětů by měl odpovídat přinejmenším 5 kreditům.

Additional semi-optional and elective modules will certainly be favoured in many institutions:

these can be chemistry modules, but may also be taken from any other subjects defined by the appropriate Regulations.

Language modules (stand-alone or integrated) will often be semi-optional, as the Eurobachelor should be proficient in a second major European language (these being English, German, Italian, French and Spanish) as well as the language of his/her home country.

In summary, for the 180 credits available, 90 credits are allocated to the core, 15 credits to the bachelor thesis, 15 credits to the semi-optional modules, and 60 credits (30 of which may come from modules not dealing with chemistry, mathematics, physics or biology) are freely allocable by the institution (or, where the institution offers individual programmes) by the student.

ECTS and Student Workload

A European average for the total (expected) student workload per year is close to 1500 hours; this figure refers to full-time students in a standard academic programme. The average number of teaching weeks is around 25. Simple mathematics thus gives a theoretical workload of around 60 hours per week if the student only works during this period; such a high workload is obviously out of the question! However, generally European institutions seem to expect their students to do degree-relevant work during 36–40 weeks per year.

Thus it is important to have clear guidelines on student workload distribution. These should always include definition of pre-examination study periods and examination periods separate from the teaching period, as these periods form an integral part of the total workload.

When defining workload for the different teaching/learning elements of a chemistry degree course it must be taken into account that, for example, the total workload connected with a 1-hour lecture is different than that corresponding to 1 hour of practical work. Factors thus have to be introduced when workload is being estimated.

Initial institutional estimates of workload for the average student will of course not necessarily be correct; thus there must be a clear mechanism for continuous student feedback on actual workload and the use of this feedback to correct the structure of programmes where necessary.

Modules and Mobility

Mobility must be an important feature of Eurobachelor qualifications. It will obviously be made easier if subject areas can agree on module sizes, at least within the core of compulsory modules.

Mobility will only be possible in the second and third years, but will be restricted unnecessarily if institutions define a high proportion of course modules as being "non-transferable", i.e. they must be taken at the home institution. Thus wherever possible only first-year modules

Další povinně volitelné a volitelné moduly budou jistě v mnoha institucích doplňovány podle potřeby:

mohou to být moduly chemické, ale mohou to být i předměty týkající se jiných oblastí definovaných příslušnými předpisy.

Jazykové moduly (samostatné nebo integrované) budou nejčastěji povinně volitelné, protože eurobakalář by měl být dostatečně komunikativní v druhém jazyce ze skupiny rozšířených evropských jazyků (angličtina, němčina, italština, francouzština, španělština) stejně jako v jazyce země, ve které má trvalý pobyt.

V souhrnu z celkového počtu 180 kreditů je 90 kreditů použito na jádro, 15 kreditů na bakalářský projekt a diplomovou práci, 15 kreditů na povinně volitelné moduly a 60 kreditů (z nichž 30 může být mimo chemii, fyziku, biologii a matematiku) je volně použitelných podle dané školy nebo (pokud instituce nabízí individuální studijní programy) podle studenta.

ECTS a studijní zatížení studentů

Evropský průměr pro celkové (očekávané) studijní zatížení studenta se blíží 1500 hodin. Tato hodnota odpovídá zatížení řádných studentů ve standardním studijním programu. Průměrný počet učebních týdnů je okolo 25. Jednoduchá matematická úvaha dá hodnotu 60 jako teoretický počet hodin v týdnu, pokud student pracuje pouze během této doby; tak vysoké studijní zatížení je však v praxi zřejmě nerálné! Na druhé straně se obecně v evropských školách očekává, že student pracuje na svém studijním programu 36–40 týdnů v roce.

Je tudíž důležité mít jasné vodítko pro rozložení zatížení studentů. Toto schéma by mělo odlišit období studia před zkouškami a období vlastních zkoušek od období výuky. Tyto části však tvoří integrální celek celkové hodnoty studijního zatížení.

Pokud se definuje zátěž pro různé součásti výuky (pasivní či aktivní) v chemickém studijním programu, musí se brát v úvahu skutečnost, že například celkové zatížení spojené s hodinovou přednáškou je jiné, než s hodinou cvičení či praktik. Obvykle se používají různé koeficienty pro lepší odhad studijního zatížení.

Úvodní odhady instituce pro zatížení průměrných studentů nemusí být vždy správné. Musí být proto vytvořen jasný mechanismus pro uplatnění zpětné vazby od studentů k hodnocení jejich zatížení tak, aby v případě potřeby mohl být program korigován.

Moduly a mobilita

Významným rysem kvalifikace eurobakaláře musí být mobilita. Situaci zjednoduší, když se spolupracující instituce domluví na velikosti modulů, přinejmenším v rámci povinného jádra.

Mobilita bude možná až během druhého a třetího roku, ale bude velmi znesnadněna za situace, kdy škola označí velkou část modulů daného programu jako nepřevoditelné, tj. jako moduly, které musí být studovány na domácí instituci. Tudíž, pokud je to možné, mají být jako

should be treated as "non-transferable".

Modules or course units should be fully described according to the ECTS "Key Features". Thus the following information is necessary for each course unit:

- Course title
- Course code
- Type of course
- Level of course
- Year of study
- Semester/trimester
- Number of credits allocated (workload based)

- Name of lecturer
- Objective of the course (expected learning outcomes and competences to be acquired)
- Prerequisites
- Course contents
- Recommended reading
- Teaching methods
- Assessment methods
- Language of instruction

Methods of Teaching and Learning

Chemistry is an "unusual" subject in that the student not only has to learn, comprehend and apply factual material but also spends a large proportion of his/her studies on practical courses with "hands-on" experiments, i.e. there are important elements of "handicraft" involved.

Practical courses must continue to play an important role in university chemical education in spite of financial constraints imposed by the situation of individual institutions.

There should also be an element of research involved in a Eurobachelor course; thus the Bachelor Thesis referred to above is a highly recommended feature of the Eurobachelor. It is important not only for those going on to do higher degrees, but also for those leaving the system with a first degree, for whom it is vital that they have personal first-hand experience of what research is about.

An industrial placement may be considered a valid alternative to a Bachelor Thesis; such placements should be organised in such a way that their outcomes are clearly documented and that they can be given credits.

Lectures should be supported by multimedia teaching techniques wherever possible and also by problem-solving classes. These offer an ideal platform for teaching in smaller groups, and institutions are advised to consider the introduction of tutorial systems.

Learning

We can help the student to learn and develop his/her capacity for learning by providing him or her with a constant flow of small learning tasks, for example in the form of regular problem-solving classes where it is necessary to give in answers by datelines clearly defined in advance.

nepřevoditelné označeny pouze moduly prvního roku studia.

Moduly a součásti studia musí být plně popsány podle metodiky ECTS základními identifikátory. Následující informace by měla být zpracována pro každou část studijního programu:

- Název předmětu
- Kód předmětu
- Typ předmětu
- Úroveň předmětu
- Rok studia
- Semestr/trimestr
- Počet přidělených kreditů (stanovených na základě studijní zátěže)
- Jméno přednášejícího
- Cíl předmětu (očekávané studijní výstupy, vědomosti a návyky, které mají být získány)
- Předpoklady (jaké předměty absolvoval)
- Obsah předmětu, osnova
- Doporučená studijní literatura
- Metody výuky
- Metody zkoušení
- Jazyk, ve kterém je přednášeno

Metody výkladu a učení

Chemie je výjimečný předmět studia, ve kterém student má získat nejen znalosti, pochopit a uplatnit látku, ale také strávit značnou část studia v praktických cvičeních a laboratořích při ruční experimentální práci, tj. zahrnuje značnou část rukodělného řemesla.

Praktické předměty musí i nadále hrát významnou roli ve vysokoškolském chemickém vzdělávání, i přes finanční zátěž, kterou to představuje pro tu či onu školu.

V bakalářském studiu musí být obsažen prvek výzkumné práce, tudíž, bakalářský projekt vedoucí k diplomové práci popsaný výše je jedním z nejdůležitějších prvků eurobakalářské kvalifikace. Je důležitý nejen pro ty, kdo budou studovat dále, ale i pro ty, kteří odejdou se studia jako bakaláři, pro něž je životně důležité to, že měli osobní zkušenost s tím, co výzkumná práce znamená v praxi.

Stáž v průmyslu (praktickém „zaměstnání“) je považována za plnohodnotnou alternativu k bakalářskému projektu. Taková stáž má být organizována tak, aby její výsledky byly jasně dokumentovatelné a aby za ní bylo možno udělit náležitě kredity.

Přednášky by měly být provázeny multimediálními prostředky, kdykoli je to možné. Podobně by měly být doprovázeny cvičeními, neboť zde se uplatní menší skupiny a školy mohou jejich prostřednictvím zavádět „tutoriální systém“.

Učení

Můžeme pomáhat studentům v učení a rozvoji jejich schopností učit se tím, že jim budeme poskytovat stabilní přísun drobných učebních povinností, například v běžných cvičeních, kde je nutno odpovídat na zadané úlohy v předem stanovených časových intervalech.

It is obviously vital to have regular contacts between the teachers involved in the modules being taught to a class in any one semester to avoid overloading the student. Teaching committees with student participation seem to be an obvious measure here.

Assessment procedures and performance criteria

The assessment of student performance will be based on a combination of the following:

- Written examinations
- Oral examinations
- Laboratory reports
- Problem-solving exercises
- Oral presentations
- The Bachelor Thesis
- Industrial placement documentation.

Additional factors which may be taken into account when assessing student performance may be derived from:

- Literature surveys and evaluations
- Collaborative work
- Preparation and displays of posters reporting thesis or other work.

Since Eurobachelor programmes are credit-based, assessment should be carried out with examinations at the end of each term or semester. It should be noted that the use of ECTS does not automatically preclude the use of "comprehensive examinations" at the end of the degree course; if these are used they must however also be included in the credit distribution process!

Written examinations will probably predominate over oral examinations, for objectivity reasons; these also allow a "second opinion" in the case of disagreement between examiner and student.

Examinations should not be overlong; 2–3 hour examinations will probably be the norm.

Examination questions should be problem-based as far as possible; though essay-type questions may be appropriate in some cases, questions involving the reproduction of material learned more or less by heart should be avoided as far as possible.

Questions should be designed to cover the following aspects:

- The knowledge base
- Conceptual understanding
- Problem-solving ability
- Experimental and related skills
- Transferable skills

Examination papers should be marked anonymously and the student should be provided with feedback wherever possible in the form of "model answers".

Grading

The ECTS grading system will obviously form an integral

Je zřejmě důležité, aby byl ustaven stálý styk mezi učiteli zapojenými do modulů a studenty v kterémkoliv semestru proto, aby bylo možno předejít přetížení studentů. Vytvoření výukových rad s účastí studentů je zřejmě jeden z prostředků, které k tomu mohou být použity.

Zkušební postupy a kritéria hodnocení

Hodnocení studijních výsledků studentů bude založeno na kombinaci následujících prvků:

- Písemná zkouška
- Ústní zkouška
- Laboratorní protokol
- Výsledky z cvičení a seminářů
- Vystoupení s přednáškou
- Bakalářská práce
- Zpráva (dokumentace) ze stáže v průmyslu apod.

Doplňkové faktory, které mohou být vzaty v úvahu při hodnocení studijních výsledků, mohou být odvozeny též z:

- Rešeršní práce a jejího vyhodnocení
- Spolupráce ve skupině
- Přípravy a předvedení plakátového sdělení o diplomovém projektu či jiné práci.

Jelikož jsou eurobakalářské studijní programy založeny na kreditním systému, je nutno provádět hodnocení studentů na konci každého období či semestru. Stojí za zmínku, že použití ECTS neznamená automaticky použití souhrnných zkoušek na konci bakalářského studia. Pokud jsou zahrnuty, je nutno je započítat do celkového rozdělení kreditů.

Písemné zkoušky budou zřejmě převládat nad zkouškami ústními pro jejich objektivitu a rovněž z toho důvodu, že umožňují dodatečně nové posouzení, pokud dojde k nesouhlasu mezi zkoušejícím a studentem.

Zkoušky by neměly být příliš dlouhé; 2–3 hodinová zkouška bude zřejmě nejběžnější.

Zkušební otázky mají být zaměřeny v co nejvyšší míře na řešení problémů; otázky, na které je odpověď popis či vyprávění, mají opodstatnění ve zvláštních případech; otázky zahrnující prostou reprodukci mechanicky naučeného materiálu je nutno v maximální míře vyloučit.

Otázky mají být konstruovány tak, aby pokryly následující aspekty:

- Základnu vědomostí
- Pochopení koncepcí
- Schopnost řešit problémové úlohy
- Dovednosti experimentovat apod.
- Přenositelné dovednosti

Písemné zkušební protokoly mají být známkovány anonymně a student musí být zpětnou vazbou informován o výsledku. Kdykoli je to možné, má obdržet v rámci této vazby modelové odpovědi.

Známkování

Známkování podle metodiky ECTS bude zřejmě integrální

part of Eurobachelor assessment. While the national grading systems will no doubt initially be used alongside ECTS grades, which are by definition ranking rather than "absolute" grades, it seems necessary to aim for the establishment of a recognised pan-European grading system.

The Diploma Supplement

All chemistry Eurobachelors should be provided with a Diploma Supplement (as described under http://europa.eu.int/comm/education/policies/rec_qual/recognition/diploma_en.html) in English and if required in the language of the degree-awarding institution.

Quality Assurance

The chemistry Eurobachelor designation will be a quality label and must wherever possible involve national chemical societies and their pan-European counterpart (the European Association for Chemical and Molecular Sciences (EuCheMS)) as well as wider European chemistry organisations such as CEFIC and AllChemE. It will thus involve the formation of one of the first trans-national European quality assurance networks in the emerging European Higher Education Area.

Original discussion paper written by T. N. Mitchell (Dortmund, DE) and R. J. Whewell (Glasgow, UK) Discussed and modified by the Tuning Project Chemistry Group.

Presented and discussed at the European Chemistry Thematic Network Annual Meetings in Perugia (May 2002) and Prague (April 2003).

Discussed and approved by the FECS (now EuCheMS) General Assembly in Barcelona, October 2003.

Adopted as the basis for award of the Chemistry Eurobachelor Label by the Assembly of the European Chemistry Thematic Network Association in Toulouse (April 2004).

Recommended by the Bologna seminar "Chemistry Studies in the European Higher Education Area", Dresden, June 2004.

T. N. Mitchell, editor

součástí hodnocení eurobakaláře. Je pochopitelné, že někde zpočátku bude paralelně k systému ECTS použit klasický místní systém, který již z definice není kompatibilní s ostatními systémy. Je tudíž záhodno zavádět srozumitelný systém známkování v celé Evropě.

Dodatek diplomu

Všichni chemičtí eurobakaláři musí obdržet spolu s diplomem též dodatek diplomu tak, jak je popsáno na URL

http://europa.eu.int/comm/education/policies/rec_qual/recognition/diploma_en.html v jazyce anglickém a je-li třeba i v jazyce instituce udělující diplom.

Zajištění kvality

Titul chemický eurobakalář bude známkou kvality. Národní chemické společnosti a jejich panevropská organizace (European Association for Chemical and Molecular Sciences, EuCheMS) i evropské chemické organizace jako CEFIC a AllChemE musí uplatnit svůj vliv na jeho kvalitu kdekoliv je to možné. Budou se tak zapojovat do jedné z prvních nadnárodních evropských organizací bdících nad kvalitou výuky v tvořícím se Evropském vzdělávacím prostoru pro vysokoškolské vzdělávání.

Původní podklad k diskusi byl napsán T. N. Mitchellem (Dortmund, SRN) a R. J. Whewellem (Glasgow, VB).

Diskutováno a modifikováno chemickou skupinou v projektu Tuning.

Předneseno a diskutováno na výročních zasedáních European Chemistry Thematic Network (ECTN) v Perugii (květen 2002) a Praze (duben 2003).

Diskutováno a schváleno plenárním shromážděním FECS (dnes EuCheMS) v Barceloně v říjnu 2003.

Přijato jako základ pro udělování akreditace studia chemického eurobakaláře shromážděním European Chemistry Thematic Network Association v Toulouse v dubnu 2004.

Doporučeno Boloňským seminářem „Chemistry Studies in the European Higher Education Area“, Drážďany, červen 2004.

Práce na projektu jsou podporovány EU v projektu Chemistry Eurobachelor, ČSCH a grantem MŠMT ČR č. 605 pro rok 2005.

Přeložil Pavel Drašar, květen 2005

„EUROBAKALÁŘ CHEMIE“ JE SKUTEČNOSTÍ PRVNÍ EVROPSKÁ UNIVERZITA ZÍSKALA LICENCI K UDĚLOVÁNÍ TITULU

OLDŘICH PALETA a PAVEL DRAŠAR

*Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5,
166 28 Praha 6
paleta@vscht.cz; Pavel.Drasar@vscht.cz*

Boloňská reforma vysokoškolského studia v Evropě

Celá Evropa prochází reformou univerzitního¹ (vysokoškolského; pro jednoduchost jsou pod termín „univerzita“ zahrnuty např. i všechny naše vysoké školy, německé Fachhochschulen a východoevropské Instituty (které jsou např. v Bulharsku)) studia, nazvanou Boloňským procesem podle místa, kde byla v r. 1999 podepsána zástupci 29 zemí základní dohoda. Další, navazující dohody a protokoly byly podepsány v Praze (2001), Helsinkách (2002) a Berlíně (2003)². Cílem Boloňského procesu je jednak posunout podíl vysokoškolsky vzdělaných Evropanů výše³, jednak harmonizovat⁴ vysokoškolský vzdělávací proces z hlediska počtu jednotlivých cyklů, jejich délky, obsahu studia v jednotlivých základních oborech, resp. disciplínách, a dále vytvořit jednotnou klasifikační stupnici. Studijní cykly jsou následující: bakalářský (3 roky + určitá povinná praxe v některých zemích), magisterský (2 roky) a doktorský (3 roky). Výchova 'Eurodoktora' by tak neměla přesáhnout 8–9 let. Základními rysy nového vzdělávacího systému jsou výukové moduly (což jsou výukové předměty nebo sdružené předměty), jejichž náročnost je charakterizována určitým počtem kreditních bodů, a výrazná úloha studentů při sestavování výukových programů jako kontrast proti minulosti, kdy programy byly výhradně sestavovány učiteli.

Harmonizace evropského univerzitního výukového systému evidentně vytvoří lepší podmínky pro pohyb studentů mezi univerzitami a konstrukci společných studijních programů např. v rámci projektu Erasmus Mundus⁵. Pro absolventy bude snazší najít zaměstnání v zahraničí, protože dosažení určitého titulu jako Eurobakalář, EURING, EURCHEM apod. bude znamenat dosažení určité standardní kvalifikace⁶. Pro potenciální studenty z jiných světadílů se systém evropského univerzitního vzdělání stane průhledným, a tím i přitažlivějším na rozdíl od předchozí nepřehledné didaktické polychromie. Širší bakalářské vzdělání dává více možností na pokračování v magisterském studiu – a to je druhý důležitý přínos nového systému vzdělání.

Pozice chemického průmyslu v Evropě

Chemický, farmaceutický a biotechnologický průmysl zaujímá významnou pozici v ekonomice Evropy. Tyto průmyslové sekce zahrnují 25 tisíc společností a firem zaměstnávajících okolo 3 milionů lidí, kterým bylo v r. 2002 vyplaceno na mzdách ca. 370 miliard Euro.

Stěžejním zájmem EU je, aby se zmíněný průmysl úspěšně rozvíjel. Hybateli průmyslu mohou být především adekvátně vzdělaní odborníci s vhodně rozvinutými schopnostmi prostřednictvím univerzitního studia. Z této průmyslové potřeby vyplývá druhý důležitý moment (cíl) boloňského procesu, a to zaměřit studijní programy přednostně na potřeby profesí (kvalifikací) v průmyslu před zaměřením se pouze na vědeckou prestiž.

European Chemical Thematic Network Association a reforma výuky chemie

ECTN⁷ je jednou ze 40 podobných sítí zřízených Evropskou Komisí pod programem Socrates-Erasmus. Od r. 1996 se vyvinula v síť sdružující 130 členů z 30 zemí a později z ní vytvořená asociace⁸ jako právnický subjekt nyní sdružuje ca. 80 univerzit a 7 národních chemických společností z 25 evropských zemí. Chopila se iniciativy v harmonizaci jednotlivých stupňů (cyklů) vysokoškolského studia chemie v rámci Boloňského procesu za finanční podpory EU. Kromě toho ECTN úspěšně pracuje na vytvoření „e-Chem-testů“ pro hlavní předměty a různé úrovně studia, uděluje akreditace Eurobakalář chemie. Zabývá se rovněž novými metodami výuky, bezpečností práce při laboratorní výuce a správné laboratorní praxi nebo vytváření podmínek pro průmyslové praxe studentů a také eliminací zkresleného pohledu veřejnosti na chemii. Příslušné informace jsou na webových stránkách⁷. Asociace hodnotí rovněž realizaci boloňského procesu na univerzitách v oblasti výuky chemie.

Charakteristika studia „chemického Eurobakaláře“⁹

Záměrem ECTN je vytvořit takový rámec, který by garantoval určitý vzdělávací chemický standard a minimalizoval tak znalostní, dovednostní a jazykové bariéry při přechodu studentů z univerzity na univerzitu, a přitom dával dostatečný prostor k tomu, aby se mohla uplatnit specifická zaměření univerzit¹. Organizace výuky je plně v kompetenci univerzit.

Obecné zásady – kreditní body a moduly

Výukové předměty mají být uspořádány do určitých výukových modulů, což je látka logicky uspořádaná pro celý kurz. Spojuje např. přednášky se semináři do jednoho celku. Pro moduly je požadován určitý minimální rozsah. Mají se tak vyloučit předměty typu „vybrané kapitoly“ a podobná torza nebo drobení výuky na máloobsahové „předmětíky“ spojené s odpovídajícím počtem mini-zkoušek. Minimální modul má vyžadovat alespoň 150 hodin studentovy činnosti za semestr (viz dále).

Evropská unie zavedla pro vyjádření náročnosti výukových předmětů a celkového studijního zatížení kreditní systém¹⁰ opírající se o počet hodin, který student potřebuje k tomu, aby splnil příslušné studijní požadavky za semestr nebo školní rok. Zahrnuje nejen hodinový rozsah všech povinných výukových předmětů, ale také přípravu na

zkoušky (včetně např. písemek během školního roku) a vypracování laboratorních protokolů. Roční studijní zatížení v Evropě se pohybuje v rozmezí 1500–1800 hod. za rok, u nás činí ca. 1800 hod. Standardní počet kreditních bodů za školní rok má být 60, což u nás odpovídá ca. 30 hod. studentovy činnosti na jeden kreditní bod. Celkový počet kreditních bodů za školní rok může být i výjimečně vyšší než 60 (viz dále).

Počty kreditních bodů za jednotlivé výukové moduly mají být násobky základního počtu, např. 5, 10, 15 atd. nebo 6, 9, 12, 15 atd. (na univerzitě v Utrechtu zavedli např. řadu 7 1/2, 15 atd.). Je třeba říci, že tento požadavek je příliš schematický a že není žádný rozumný důvod proti tomu, aby např. předměty měly 5, 7, 8, 9 apod. kreditních bodů při zachování minimálního počtu kreditních bodů za modul (tj. 5) a celkového počtu 60 (maximálně 80) za školní rok.

V této souvislosti je nutno zdůraznit, že nelze přijmout praxi, kdy jsou výukové hodiny přepočítávány na kredity jakýmsi koeficientem, neboť kreditní hodnoty by měla mít např. i příprava na státnice.

Obsah a rozsah studia

Zdá se, že ve většině zemí, kde probíhá Boloňská reforma studia, se ustaluje systém 3-2-3(4) roky třístupňového vysokoškolského studia, bakalářský program trvá tedy 3 roky. Ačkoli Helsinská úmluva počítala s rozpětím 180–240 ECTS bodů, ukazuje současná situace, že 180 kreditních bodů bude obvyklý rozsah, a z toho důvodu také model „Eurobakalář“ počítá s tímto rozsahem. Pokud bude rozsah kreditů na určité univerzitě větší, předpokládá se, že další moduly budou věnovány diplomové práci nebo delší průmyslové stáži za pedagogického vedení, nikoli na další předměty.

Učební moduly (předměty) se rozdělují na povinné, částečně (povinně) volitelné a volně volitelné. Povinné moduly musejí mít rozsah alespoň 90 kreditů a zahrnují tzv. chemické jádro¹¹ (obecnou chemii, anorganickou chemii, organickou chemii, fyzikální chemii a biologickou chemii*) spolu s matematikou a fyzikou. Obsah jednotlivých povinných předmětů je stručně charakterizován v materiálech ECTN⁸. Mezi povinné moduly patří bakalářská práce povinně obsahující experimentální část nebo průmyslová stáž zakončená zprávou v rozsahu alespoň 15 kreditních bodů. Částečně volitelné moduly (předměty) mají být alespoň 3 v rozsahu min. 15 kreditních bodů ECTS a jsou např. z oblasti chemické technologie, makromolekulární chemie, výpočetní chemie, biologie apod.

Autonomie univerzit – je prostor pro tradiční výuku?

V modelu 180 kreditů zbývá univerzitám 60 kreditů, které mohou být zdánlivě použity zcela volně, přitom 30 z nich se může týkat nechemických oblastí, např. matematiky, fyziky, biologie apod. Na druhé straně se ale předpokládá, že bakalář nutně zvládne jeden z hlavních evropských jazyků do té úrovně, aby mohl případně absolvovat část svého studia na jiné univerzitě. Místo 60 tak

zbývá univerzitám vcelku ještě slušný počet 40 kreditů na předměty (moduly), které jsou pro určitou univerzitu tradiční nebo umožňující získat bakalářům snáze zaměstnání.

Získané vzdělání, dovednosti, odbornosti a kvalifikace

V rámci modelu Eurobakaláře se předpokládá, že studenti získají následující odbornosti a kvalifikace:

1) *Chemicky orientované kognitivní odbornosti a dovednosti vztahující se k intelektuálním úkolům.* Jde o pochopení základních faktů, koncepcí, principů a teorií a schopnost jejich aplikace na řešení praktických úloh známé povahy. Zahrnují schopnosti vybrat vhodné měření a rozpoznat správné měření a vyhodnotit naměřená data. K tomu se řadí matematická analýza chyb, odhady řádů veličin a správné používání jednotek. Umět získat potřebné údaje prostřednictvím počítače, umět prezentovat výzkumný materiál písemně nebo ústně před informovaným publikem.

2) *Chemicky orientované praktické dovednosti, jako např. provádět laboratorní práce v základních oblastech chemie.* Oblast zahrnuje dovednosti potřebné k provádění standardních laboratorních postupů a používání přístrojů, dovednosti pro sledování dějů a změn, schopnost interpretace získaných dat a jejich porovnání s příslušnými teoriemi. Patří sem i dovednost v zacházení s chemickými látkami a schopnost posouzení příslušných rizik.

3) *Obecné dovednosti a odbornosti, které se získají v kontextu chemické výuky a přitom jsou použitelné v četných nechemických činnostech.* V první řadě jsou to schopnosti písemné a ústní komunikace v jazyce domácím a v jednom z hlavních evropských jazyků. V kontextu s chemickými předměty by absolventi měli získat dovednost řešit úlohy (problémy) vztahující se ke kvalitativním nebo kvantitativním údajům. Nutná je dovednost práce s různými počítačovými editory a databázemi. Absolventi by měli získat také dovednost odborné komunikace s ostatními a angažování se v týmové práci.

Povinný dodatek diplomu

Rámec Eurobakaláře vyžaduje, aby všichni absolventi obdrželi spolu s diplomem bezplatně tzv. dodatek k diplomu v té formě, jak je popsáno v materiálech ECTS¹². V podstatě jde o seznam absolvovaných předmětů spolu se známkou, rozsahem a jménem instituce, kde byl předmět (modul) absolvován. Dodatek se vydává v jazyce anglickém a je-li třeba, také v jazyce instituce udělující diplom. Není pochyb o tom, že takové „vysvědčení“ dává dosti přesný obraz o vzdělání bakaláře.

Hodnocení studentovy činnosti

Hodnocení studijních výsledků je založeno na kombinaci následujících prvků: písemná zkouška, ústní zkouška, laboratorní protokol, výsledky ze seminářů, vystoupení s přednáškou, bakalářská práce nebo zpráva z průmyslové stáže. Do studentova hodnocení lze započítat rešeršní práci, spolupráci na kolektivní práci nebo plakátové sdělení o výsledcích nějakého projektu (včetně diplomového).

Zkoušky by neměly být časově přetažené; počítá se, že 2–3 hodinová zkouška bude nejběžnější. Na druhé straně

* Biologická chemie je biochemie v chemickém pohledu, zabývá se biochemickými procesy na chemické molekulární úrovni.

zkoušky kratší než půl hodiny (včetně přípravy studenta) se nedoporučují. Pokud budou probíhat závěrečné (státní) zkoušky (což je v Evropě spíše výjimka), je třeba jim vyhradit odpovídající počet kreditních bodů.

Zkouškové otázky mají být co nejvíce formulovány úlohově; otázky, které vyžadují „esejovou“ odpověď, mohou mít někdy opodstatnění, avšak otázky soustředující se na prosté reprodukování naučeného materiálu musejí být vcelku vyloučeny. Otázky by měly být formulovány tak, aby pokryly následující aspekty: základ vědomostí, pochopení souvislostí, schopnost řešit úlohy, dovednosti experimentovat, přenositelné dovednosti a odbornosti. Písemky by měly být známkovány anonymně. Studenti by měli mít k dispozici vzorové příklady; je ale vyloučeno, aby konkrétní zkouškové úlohy a otázky znali předem.

Známkování: U nás již byla na řadě škol zavedena evropská šestistupňová klasifikační stupnice podle metodiky ECTS (známky „A-E“ pozitivní, známka „F“ pro nevyhovující výsledek)¹³.

Nepotlačí rámec Eurobakaláře vynikající studenty ?

Dopředu je možno odpovědět, že nikoliv. Rámec Eurobakaláře se 180 kredity je vytvořen pro průměrného studenta. Specifikuje minimální rozsah chemického jádra, výběrových předmětů a zcela volitelných předmětů. Určuje minimální rozsah výukového modulu a tím určuje maximální počet zkoušek a stanovuje rovněž minimální rozsah bakalářské práce. Pokud má některá univerzita vyšší počet kreditů do maxima 240, může se tak stát jen na rozšíření bakalářské práce nebo průmyslové stáže, nikoli přidáním počtu modulů (předmětů).

Vynikajícím studentům musí být umožněno, aby mohli skládat zkoušky i během semestru a v „ušetřeném“ čase se věnovali výzkumné práci nebo studiu dalších předmětů podle svého výběru. Všechny tyto studijní aktivity jsou pak zaznamenány v doplňku diplomu. Předpokládá se, že nejlepším bakalářům bude umožněn i vstup do doktorských programů. Naše legislativa s takovou možností zatím nepočítá.

Akreditace univerzit pro udělování Eurobakaláře

Význam akreditace univerzit pro udělování titulu „Eurobakalář“ svým absolventům je nesporný jak pro studenty, tak pro univerzity. Především je to garance určité kvality i pro zaměstnavatele. Absolventům-Eurobakalářům titul usnadní přestup do magisterského studia na jinou univerzitu s licenci Eurobakaláře, ale také naopak. Lze očekávat, že uchazeči budou mít větší zájem o studium na eurobakalářských univerzitách, rovněž lze očekávat větší zájem ze zahraničí.

Akreditační řízení provádí komise ECTN, která byla zvolena členy Asociace. Komise posuzuje univerzitou dodané materiály a provádí za pomoci národního experta inspekci na místě, kde se přesvědčuje, jaká je skutečnost. Navštěvuje všechny druhy výuky a hovoří s učiteli a studenty. Zámka (licence) Eurobakalář se primárně uděluje studijním programům. Může se tak stát, že příslušnou licenci Eurobakaláře získají na univerzitě jen některé programy. Historicky první univerzitou, která licenci Eurobakaláře získala, je Univerzita Helsinky (květen 2005, pro studijní program chemie na chemické fakultě).

Zaměstnatelnost Eurobakalářů

V Evropě je kvalifikace bakaláře novinkou v těch zemích, kde byli doposud zvyklí na absolventy pětiletého studia. Na tuto kvalifikaci nejsou především zvyklí kontinentální zaměstnavatelé a bude jistě určitou dobu trvat, než kvalitu Eurobakaláře dokáží zaměstnat. Naproti tomu v Británii a Irsku, kde je třístupňové vzdělání se stupněm bakaláře staletou tradicí, vychází z univerzit ca. 50 % bakalářů.

Zaměstnatelnost bakalářů na kontinentě významně podpoří zejména obecné dovednosti a odbornosti získané ve spojení s chemickými předměty a matematikou, jak byly zmíněny výše. V souhrnu je to schopnost praktické aplikace znalostí, dovednosti počítačové, komunikační, jazykové, rozhodovací, dedukční a syntetické a rovněž týmové.

Základní norma

Základní „normou“ pro založení kursu odpovídajícího schématu evropského bakaláře podle ECTN je článek „Chemistry Eurobachelor“, který byl publikován i v anglicko-české verzi^{14,15}.

Projekt byl podpořen v roce 2005 grantem rozvojového programu MŠMT ČR č. 605.

LITERATURA

1. <http://www.bologna.msmt.cz/>; staženo 7/6 2005.
2. www.bologna-berlin2003.de/pdf/Communique1.pdf; www.bologna-berlin2003.de/pdf/Results.pdf; staženo 7/6 2005.
3. <http://europa.eu.int/rapid/pressReleasesAction.do?reference=IP/05/445&format=HTM>; staženo 7/6 2005.
4. <http://europa.eu.int/scadplus/leg/en/cha/c00003d.htm>; staženo 7/6 2005.
5. http://europa.eu.int/comm/education/programmes/mundus/index_en.html; staženo 7/6 2005.
6. CF, case C-240/98 Vassopolou (1989) ECR I-2357; OJ L 19, 24. 1. 1989; Chemistry in Europe, Nov., 5 (1997); <http://www.uochb.cas.cz/Bulletin/bulletin293/980309.html>, Bull. Assoc. Czech Chem. Soc. 29 No. 3, 1998.
7. www.ectn.net; staženo 7/6 2005.
8. www.ectn-assoc.org; staženo 7/6 2005.
9. www.eurobachelor.net; www.cpe.fr/ectn-assoc/eurobachelor/; staženo 7/6 2005.
10. http://europa.eu.int/comm/education/programmes/socrates/ects_en.html#7; staženo 7/6 2005.
11. www2.fci.unibo.it/~corechem/; staženo 7/6 2005.
12. http://europa.eu.int/comm/education/policies/rec_qual/recognition/diploma_en.html; staženo 7/6 2005.
13. Lapčík O.: Chem. Listy 99, 288 (2005).
14. Mitchell T. N. (ed.): *The Chemistry "Eurobachelor"*, Version 2005, publikováno na <http://www.cpe.fr/ectn-assoc/eurobachelor/srvc/zreports.htm>, staženo 7/6 2005.
15. Mitchell T. N. (ed.): Chem. Listy 99, 531 (2005).

Ze života společnosti

40 let odborné skupiny chemického vzdělávání ČSCH

Jiří Banýr

*Pedagogická fakulta, Univerzita Karlova v Praze, 116 39
Praha 1, M. D. Rettigové 4
jiri.banyr@pedf.cuni.cz*

Příspěvek se týká historie vzniku, činnosti a role odborné skupiny chemického vzdělávání při České společnosti chemické, která si v letošním roce připomíná 40 let své činnosti. Měl by rovněž ukázat, s jakými problémy se potýkala výuka chemie v té době a jak činnost odborné skupiny korespondovala s vývojem didaktiky chemie u nás a jak ho ovlivňovala. Letošní kulaté výročí je vhodné k tomu, abychom se zamysleli nad dosavadní činností této skupiny a zhodnotili její působení. Chci při této příležitosti samozřejmě vzpomenout podílu těch pracovníků, kteří stáli u zrodu odborné skupiny a podíleli se na její činnosti, ale nejsou již mezi námi anebo již aktivně nepracují.

Již samotný vznik odborné skupiny pro výuku byl vyvolán potřebou didaktiků chemie získat vhodnou platformu, kde by se mohli stýkat a vyměňovat si názory nejen mezi sebou, ale i s odbornými chemiky, mít možnost prezentovat své představy o směřování práce v tomto oboru a vzájemně se poznávat. Odborná skupina chemického vzdělávání (dále jen OSCHV), která se až do předminulého roku nazývala odbornou skupinou pro výuku chemie (v seznamu literatury označovaná zkratkou OSV), byla založena v r. 1965 v rámci Československé společnosti chemické díky pochopení jejího hlavního výboru a zejména plné podpory jeho předsedy prof. Ing. dr. Františka Čůty, DrSc. U zrodu odborné skupiny byli prof. dr. Eduard Pachmann, CSc., budoucí dlouholetý vědecký tajemník odborné skupiny, prof. dr. Radim Palouš, CSc., bývalý rektor UK, který v té době pracoval na katedře chemie Pedagogické fakulty UK a prof. dr. Stanislav Škramovský, DrSc., profesor PřF UK v Praze a první předseda odborné skupiny.

OSCHV si dala za cíl působit především v těchto oblastech činnosti:

- podílet se na modernizaci učiva a výuky chemie na základních a středních školách a při přípravě učitelů;
- pečovat o talentované žáky a studenty při různých formách zájmové činnosti (zejména při chemické olympiádě);
- rozvíjet didaktiku chemie jako vědní obor a jako předmět vysokoškolské přípravy učitelů chemie.

Organizačně byla činnost odborné skupiny realizována zejména těmito formami:

- a) prostřednictvím samostatných celostátních konferencí

a seminářů, které byly od začátku osmdesátých let nahrazeny sekcemi v rámci sjezdů ČSCH. Zatímco v prvních letech se výrazně do těchto akcí zapojovaly krajské pedagogické ústavy a účastníci se jich v hojném počtu učitelé z daného regionu, později se staly tyto akce většinou doménou vysokoškolských pracovníků a pracovníků institucí, které se touto problematikou zabývaly;

- b) regionálními akcemi pořádanými pro členy OSCHV pobočkami ČSCH (např. v Plzni, Ostravě, B. Bystrici, Praze aj.); šlo o přednášky, besedy a kurzy s aktuální tematikou;
- c) celostátními semináři didaktiků chemie, pořádanými jednotlivými fakultami připravujícími učitele chemie (angažovaly se zejména pedagogické fakulty Brno, Hradec Králové, Praha, přírodovědecké fakulty Ostrava, Praha, Bratislava, aj.). Zvláště v posledních letech nabyla tato forma na významu.

Po počátečním slibném rozjezdu činnosti, kdy OSCHV se stala jednou z nejaktivnějších odborných skupin ČSCH a počet členů přesáhl dvě stě, přišla doba jisté stagnace, úbytku členů a poklesu významu této skupiny pro vývoj didaktiky v ČSSR a později v ČR. Teprve v posledních letech je opět zřejmá aktivita a rozvoj činnosti skupiny. Máme-li porovnat, jak se zaměření činnosti OSCHV odvíjelo od aktuálních problémů didaktiky chemie té doby, je možné tuto korelaci dobře sledovat např. studiem sborníků a závěrečných usnesení z těchto konferencí^{1–20}, ale i dalších publikací účastníků (např.^{21–26}).

Přehled celostátních seminářů a konferencí didaktiků chemie podává následující tabulka.

- | | |
|-------|---|
| I. | PedF UK Praha 11. – 12. 10. 1965 |
| II. | PedF UJEP Brno 13. – 15. 10. 1966 |
| III. | PřF KU Bratislava 12. – 14. 10. 1967 |
| IV. | PedF České Budějovice 20. – 22. 2. 1969 |
| V. | PedF UJEP Brno 17. – 19. 11. 1969 |
| VI. | sekce 26.sjezdu ČSCH České Budějovice
7. – 10. 7. 1970 |
| VII. | PedF Ostrava 8. – 10. 9. 1971 |
| VIII. | PedF Prešov 20. – 22. 9. 1972 |
| IX. | PedF UK Praha – Brandýs n. L. 17. – 20. 9. 1973 |
| X. | PedF UP Olomouc 10. – 13. 9. 1974 |
| XI. | PedF Nitra – 1. seminář didaktiků 9. – 12. 9. 1975 |
| XII. | PedF Ústí n.L. – 2. seminář didaktiků 14. – 17. 9. 1976 |
| XIII. | PedF UJEP Brno 25. – 27. 9. 1978 |
| XIV. | PedF Banská Bystrica 4. – 6. 9. 1979 |
| XV. | PedF Ostrava 2. – 4. 9. 1980 |

- XVI. sekce 37. sjezdu ČSCH Pardubice 1981
 XVII. sekce 38. sjezdu ČSCH Praha 6. – 9. 7. 1982
 XVIII. sekce 39. sjezdu ČSCH Olomouc 1983
 XIX. 3. seminář didaktiků chemie PŘF UJEP Košice
 31. 5. – 3. 6. 1983
 XX. sekce 40. sjezdu ČSCH Banská Štiavnica
 2. – 6. 7. 1984
 XXI. 4. seminář didaktiků chemie – PŘF Plzeň
 26. – 27. 6. 1985
 XXII. sekce 42. sjezdu ČSCH Ostrava 1. – 4. 7. 1986
 XXIII. 5. seminář didaktiků při 43. sjezdu ČSCH v Ústí
 n. L. 30. 6. – 3. 7. 1987
 XXIV. sekce 44. sjezdu ČSCH Brno 5. – 8. 7. 1988
 XXV. 6. seminář didaktiků chemie, fyziky a matemati-
 ky, PŘF Praha 26. 6. 1989
 XXVI. sekce 46. sjezdu ČSCH Pardubice 2. – 4. 7.
 1990
 XXVII. sekce 47. sjezdu ČSCH Praha 1. – 4. 7. 1991
 XXVIII. sekce 48. sjezdu chemických společností UP
 Olomouc 13. – 16. 9. 1993
 XXIX. sekce 49. sjezdu chemických společností Brati-
 slava 4. – 7. 9. 1995
 XXX. sekce 50. sjezdu chemických společností Zlín
 7. – 10. 9. 1997
 XXXI. sekce 51. sjezdu chemických společností Nitra
 6. 9. – 9. 9. 1999
 XXXII. sekce 52. sjezdu chemických společností České
 Budějovice 17. – 20. 9. 2000
 XXXIII. sekce 53. sjezdu chemických společností Ban-
 ská Bystrica 3. 9. – 6. 9. 2001
 XXXIV. sekce 54. sjezdu chemických společností Brno
 30. 6. – 4. 7. 2002
 XXXV. sekce 55. sjezdu chemických společností Koši-
 ce 8. 9. – 12. 9. 2003
 XXXVI. sekce 56. sjezdu chemických společností Ostra-
 va 6. – 9. 9. 2004

V čele OSCHV se postupně vystřídali prof. dr. Stanislav Škramovský, DrSc. a prof. dr. Jaroslav Zýka, DrSc., oba z PŘF UK v Praze, prof. Ing. Jaromír Vrbský, CSc. z VŠCHT v Praze, doc. dr. Karel Holada, CSc. z PŘF UK Praha a doc. dr. Hana Čtrnáctová, CSc. z PŘF UK v Praze. Všichni svým způsobem a svou autoritou ve veřejnosti pomáhali rozvíjet práci odborné skupiny.

Prvních šest konferencí bylo věnováno především problémům modernizace učiva a výuky chemie na základních a středních školách. Nejdůležitějšími impulzy k tomu

byly moderní americké a anglické projekty chemie (ChemStudy, CBA, Nuffield), s nimiž jsme se měli možnost v té době seznámit. Nová koncepce výuky měla být postavena na ústředních tématech obecné chemie (vlnové mechanický model atomu, moderní teorie chemické vazby, obecné otázky chemických reakcí, periodický systém prvků, struktura a reakce organických látek aj.), na ně mělo navazovat faktografické učivo. Učivo mělo být propracováno tak, aby bylo zvládnutelné průměrným žákem a studentem, akcent byl položen na názorném a praktickém vyučování, tj. na experimentech a učebních pomůckách. Shodou okolností se v této době formovaly nové výukové projekty a tvořily se experimentální učebnice pro základní a střední školy, které se sice odvolávaly na výše uvedené závěry, ale ne zcela s nimi korespondovaly a dokonce si protiřečily. Vyvíjely se rovněž nové učební pomůcky, které by usnadnily zpřístupnění učiva (transparenty, modely atomů a molekul, nově propracovávané demonstrační a žákovské pokusy). Celé období je možné charakterizovat termínem modernizace učiva a výuky chemie.

Konference a semináře didaktiků v sedmdesátých letech byly orientovány na výzkum tvorby a fungování nových projektů výuky. Vzpomeňme, že v této době byl vytvořen první Informační bulletin pro didaktiku chemie, čerpající ze všech tehdy v ČSSR dostupných periodik (vznikl na půdě katedry chemie PŘF UK, ale na jeho tvorbě se podílela řada didaktiků z celé ČSSR), byl zformován zatím největší a nejucelenější výzkumný úkol v oblasti didaktiky „Modernizace učiva a výuky chemie na všeobecně vzdělávací škole a její odraz v přípravě učitelů“²¹. Na řešení tohoto úkolu rozčleněného do jedenácti sekcí se tehdy podílela většina pracovišť didaktiky chemie v ČSSR s více než padesáti řešiteli. Na konferencích byly diskutovány metody výzkumu, dílčí výsledky řešení i první zkušenosti s experimentálními učebnicemi chemie. Konference byly většinou monotematické – např. v r. 1971 v Ostravě byly projednávány metodologické problémy výzkumu a koncipován státní projekt základního výzkumu, o kterém byla řeč výše, konference v r. 1972 v Prešově se zabývala problémy didaktiky chemie jako vědní disciplíny a předmětu vysokoškolského studia, konference v r. 1973 v Brandýse n. L. byla věnována experimentům, v r. 1974 v Olomouci a v r. 1976 v Ústí n. L. výsledkům výše zmíněného základního výzkumu. Konference v letech 1981 až 1984 byly zaměřeny na problematiku výuky chemie na SOU a SOŠ.

Od začátku osmdesátých let se setkání didaktiků stala součástí celostátních sjezdů chemické společnosti a ztratila se monotematicnost v obsahu konferencí. V posledních letech se sekce výuky chemie většinou propojuje s problematikou historie chemie a chemické informatiky. Za klad tohoto řešení je možné považovat skutečnost, že jednání sekce se mohli zúčastnit přední chemici podílející se na jednání sjezdu v jiných sekcích, nevýhodou bylo naopak postupné vytrácení se účastníků ze základních a středních škol, na němž se zřejmě podílely i zvýšené konferenční poplatky vyžadované organizátory sjezdů. V této době bylo velmi obtížné najít ústřední téma, kterému by se sek-

ce pro výuku na sjezdu věnovala – většinou šlo o dílčí zkušenosti s výukou podle experimentálních učebnic chemie. Také přestává fungovat Informační bulletin pro didaktiku chemie, poté co jeho přípravu, realizaci a distribuci převzala ústřední knihovna Pedagogické fakulty UK a její ediční oddělení.

Pro vlastní rozvoj didaktiky chemie v devadesátých letech nabývají proto stále větší význam samostatná celostátní setkání didaktiků chemie, zajišťovaná vždy jednou z fakult, připravujících učitele chemie. Největší význam z tohoto hlediska měly semináře organizované katedrou chemie PedF UHK v Hradci Králové a zpočátku i PedF MU v Brně. Akcent na těchto setkáních je položen jednak na sdílení zkušeností s uplatňováním nových metod a forem výuky chemie, jednak na vyhledávání a řešení hlavních problémů současného chemického vzdělávání. Vzpomeňme jen na dlouholeté úsilí věnované prosazení doktorského studia vzdělávání v chemii a možnostem habilitací a jmenovacích profesorských řízení v tomto oboru, problematice ekologie a ekologické výchovy v chemii, integračním tendencím ve výuce chemii, zvyšování zájmu o studium chemie a boj s chemofobií, prosazení multimediálních prostředků a ICT do výuky chemie a do přípravy učitelů. Určitým negativním jevem posledních setkání je zjevný ústup reálného chemického experimentu z programů setkání. Současné perspektivy oboru směřují především do oblasti integrace na úrovni sjednocování vzdělávání v rámci EU i na úrovni integrace přírodovědného vzdělávání a do oblasti mezinárodní spolupráce na úrovni dvoustranných dohod i zapojení do činnosti evropských a světových organizací a mezinárodních publikačních aktivit, které se týkají chemického vzdělávání.

V tomto stručném přehledu nebylo možné obsáhleji se věnovat celé činnosti OSCHV, ale snad i z tohoto uvedeného přehledu je zřejmý význam odborné skupiny pro didaktiku chemie u nás. Vedle úspěchů byly i prohry. Řadu návrhů se nepodařilo prosadit, protože k jejich prosazení neměla OSCHV kompetence. Vždy měla jen hlas poradní. Zde bych chtěl připomenout např. snahu OSCHV prosadit na gymnázia systemizované místo laboranta pro usnadnění přípravy učitelů chemie, biologie a fyziky na výuku.

Na práci odborné skupiny se po dobu existence OSCHV podílela početná část našich pedagogických a vědeckých pracovníků v tomto oboru. Není možné se zmiňovat o všech, kteří se na činnosti nejvíce podíleli, chtěl bych však v této souvislosti uvést alespoň některé z osobností, jejichž podíl byl nepominutelný. Kromě předsedů odborné skupiny jmenovaných dříve, to byli zejména prof. dr. Eduard Pachmann, CSc. z PedF Praha, zakládající člen a dlouholetý vědecký tajemník OSCHV a doc. dr. Viktor Hofmann, CSc. z PedF Brno. Někteří z nás dodnes vzpomínají na jejich zdánlivě ostré střety nad konkrétními problémy, které však nijak neomezovaly jejich spolupráci a vždy vedly ke konstruktivní dohodě v zájmu OSCHV. Každý z nich se podílel na práci odborné skupiny jiným způsobem – prof. Pachmann se vyznačoval důkladností, soustavností, snahou o koordinaci práce a formulací hlav-

ních směrů činnosti, doc. Hofmann byl *spiritus agens* většiny konkrétních přínosů k rozvoji didaktiky. Všichni ho spojujeme zejména s jeho přínosem k rozvoji chemických experimentů a s tvorbou prvních experimentálních učebnic chemie pro základní školy. Bylo by chybou nezmínit i podíl dalších pracovníků, kteří dnes již nejsou mezi námi nebo ukončili svoji aktivní činnost. Byli to zejména prof. Ing. Jan Neiser, DrSc. a dr. Josef Jungmann z PřF v Ostravě, prof. dr. Josef Trtílek, dr. Jiří Borovička, prof. dr. Milan Kratochvíl, DrSc. a dr. Břetislava Černá, CSc. z PřF a PedF v Brně, prof. dr. Jindřich Hellberg, DrSc. a dr. Zdeněk Šebestík, CSc. z PedF v Hradci Králové, dr. Josef Halbych, CSc. a dr. František Zemánek z PřF v Praze, prof. dr. Václav Kolský, CSc. z PedF v Ústí n. L. Ze slovenských kolegů bych chtěl uvést zejména prof. RNDr. Otto Tomečka, CSc. a doc. dr. Martina Kleina, CSc. z PřF v Banské Bystrici, doc. dr. Laco Smika, CSc. z PřF v Košicích a doc. dr. Tibora Liptaye, CSc. z PedF v Trnavě.

LITERATURA

Sborníky z konferencí a seminářů OSV a ze sjezdů ČSCH:

1. *Pojetí ústředních témat učiva chemie*. KPÚ, Praha 1966.
2. *Študijné materiály pro výučbu chémie*. SPN, Bratislava 1967.
3. *Študijní materiály pro výuku chemie*. PedF, České Budějovice 1969.
4. *Sborník referátů z pracovních dnů OSV*. PedF, Ostrava 1971.
5. *Zborník referátov z konferencie OSVCH*. PedF UPJŠ, Prešov 1972.
6. *Sborník referátů z 9. konference o výuce chemie v Brandýse n. L.* PedF UK, Praha 1973.
7. *Modernizace učiva a výuky chemie*. PedF UP, Olomouc 1974.
8. *XI. celoštátna konferencia o vyučovaní chémie*. PedF, Nitra 1975.
9. *Sborník referátů z XII. celostátní konference o výuce chemie*. Ústí n. L. 1977.
10. *Výchova a vzdělání v učebním předmětu chemie*. PedF UJEP, Brno 1980.
11. *Zborník referátov z XIV. celoštátnej konferencie o výučbe chémie*. PedF, Banská Bystrica 1980.
12. *Sborník referátů z XV. celostátní konference o výuce chemie*. PedF, Ostrava 1980.
13. *Souhrny přednášek z 38. sjezdu ČSCH*. Praha 1982.
14. Kolektiv: *Didaktika chémie a jej základná funkcia pri vzdelávaní učitelov a při vedecko-výzkumnej práci*. PrF UJÍŠ, Košice 1983.
15. *Zborník prednášek ze 40. sjezdu chemiků*. SCHS, B. Štiavnica 1984.
16. *Seminář didaktiků chemie: Možnosti spolupráce při řešení vědeckovýzkumných úkolů základního a aplikovaných výzkumů*. PedF. Plzeň 1985.
17. *Sborník přednášek 42. sjezdu ČSCH*. Ostrava 1986.
18. Vrbský J., Pachmann E.: *Odborná skupina pro výuku*

- chemie při ČSCH, její význam a funkce*. Referát na 42. sjezdu ČSCH v Ostravě v r. 1986.
19. *Sborník přednášek ze 43. sjezdu ČSCH*. Ústí n. L. 1987.
 20. *XXI. celostátní konference o výuce chemie – sekce 5 na 44. sjezdu ČSCH*. Brno 1988.
 21. *Sborník „50 let PedF UK v Praze“*. PedF UK, Praha 1996.
 22. *Výzkum výběru a uspořádání učiva chemie na všeobecně vzdělávací škole*. Sborník prací ke SPZV VIII-4-3 Ch. PedF UK, Praha 1975.
 23. Čtrnáctová H.: *Odborná skupina pro výuku chemie České společnosti chemické*. V: Aktuální otázky výuky chemie (Sborník přednášek z IX. Mezinárodní konference o výuce chemie). Gaudeamus, Hradec Králové 2000, s. 55–56.
 24. Čtrnáctová H.: *Chem. Listy* 98, 950 (2004).
 25. Čtrnáctová H.: *Chem. Listy* 98, 555 (2004).
 26. Hellberg J., Bílek M.: *Chem. Listy* 94, 1125 (2000).
 27. Bílek M.: *Chem. Listy* 96, 716 (2002).

Udelenie Čestného členstva Českej chemickej spoločnosti RNDr. Dalme Gyepesovej, CSc.

RNDr. Dalma Gyepesová, CSc. sa narodila 29.5.1936 vo Vyhníach, okr. Žiar nad Hronom. Vysokoškolské štúdium ukončila v r. 1959 na Prírodovedeckej fakulte UK v Bratislave, odbor chémie, špecializácia fyzikálna chémie. Svoju profesnú kariéru spojila v r. 1960 s Ústavom anorganickej chémie Slovenskej akadémie vied v Bratislave, kde pracuje dodnes. Dizertačnú prácu na tému „Štruktúra merwinitu a akermanitu“ obhájila v r. 1972. Venuje sa štruktúrnej analýze anorganických a organických zlúčenín monokryštálovými röntgenovými difrakčnými metódami s cieľom poznávania vzťahov medzi ich štruktúrou a vlastnosťami. V predchádzajúcom období sa Dr. Gyepesová venovala riešeniu kryštálových štruktúr látok, ktoré boli súčasťou výskumu žiaruvzdorných materiálov, spolupracovala na riešení kryštálových štruktúr skupiny peroxokomplexov vanádu(V) a venovala sa štúdiu lokálnej symetrie vrstevnatých silikátov. V ostatnom období jej objektové a problémové zameranie zahŕňa štruktúrnú analýzu modelových chirálnych derivátov sacharidov so zámerom prispieť k objasneniu mechanizmu bioaktivity aminosacharidov a riešenie kryštálových štruktúr komplexných zlúčenín Cu(II) so Schiffovými zásadami s doplnkovými neutrálnymi ligandmi, ktoré majú antimikróbne a antiradikálové vlastnosti. Výsledky jej vedeckej činnosti sú obsiahnuté v 48 publikáciách, citovaných viac ako 230 krát. Je spoluautorkou knižnej publikácie *Comprehensive Dictionary of Physical Chemistry* (Coedit. Ellis

Horwood Ltd. England and Alfa Publ. Czecho-Slovakia, 1992). Z ďalšej odbornej práce je to rad recenzií výskumných správ a článkov pre odborné časopisy domáce i zahraničné, posúdenie zahraničného projektu pre Ministerstvo pre vedu a technológiu Slovenskej republiky, spolupráca na expertízach pre domáce podniky a i. Na pozvanie predniesla v zahraničí 8 prednášok zo štruktúrnej kryštalografie. V oblasti pedagogickej školila doktorandov a prednášala predmet Kryštalochémia na Prírodovedeckej fakulte UK v r. 1998–91.

Dr. Gyepesová absolvovala viaceré pracovné pobyty na zahraničných pracoviskách, z nich spomeniem z akademických ústavov Centrálny ústav anorganickej chémie v Berlíne a Ústav chémie silikátov v St. Peterburgu, Ústav materiálového výskumu C.S.I.C. v Madride a z univerzitných univerzitu v Hamburgu a Göteborgu. V r. 2000 absolvovala krátke návštevy viacerých univerzít v USA, ktoré sponzorovala ACS.

V r. 1982–91 bola Dr. Gyepesová zástupkyňou riaditeľa Ústavu anorganickej chémie SAV, vedúcou Oddelenia vrstevnatých silikátov, zodpovednou riešiteľkou úloh základného výskumu a v rámci ústavu bola zodpovedná za plnenie niektorých úloh medzinárodnej spolupráce. V r. 1991 sa za SAV zúčastnila priameho prerokovania návrhov zo SAV na vedeckú a technickú spoluprácu medzi SAV a C.S.I.C. Spolupracovala s domácimi a zahraničnými pracoviskami, z nich spolupracuje s univerzitou v Göteborgu doteraz. V r. 1984–87 bola členkou Vedeckého kolégia pre chemické vedy SAV, od r. 1993 je tajomníčkou Slovenského národného komitétu pre chémiu IUPAC. Od r. 1993 je členkou redakčnej rady časopisu *Chemical Papers* a *Bulletinu SCHS*.

V r. 1982–90 bola členkou predsedníctva Slovenskej chemickej spoločnosti pri SAV, v r. 1990–93 bola podpredsedníčkou, a od r. 1997 doteraz je vedeckou tajomníčkou. Dr. Gyepesová sa dlhoročne s entuziazmom podieľa na práci v prospech SCHS. Patrí medzi tých členov SCHS, ktorí usilujú o stále zveľaďovanie a prispievajú k dlhoročne dobrým odborným a organizačným vzťahom medzi Slovenskou chemickou spoločnosťou a Českou spoločnosťou chemickou.

Za svoju dlhoročnú vedeckú a organizačnú prácu Dr. Gyepesová obdržala viaceré ocenenia, z ktorých spomeniem Čestnú plaketu D. Ilkoviča za zásluhy vo fyzikálno-chemických vedách, ktorú jej udelilo Predsedníctvo SAV (1986) a Zlatú medailu SCHS za zásluhy o rozvoj spoločnosti, ktorú jej udelila SCHS (2001).

Hlavný výbor Českej chemickej spoločnosti schválil udelenie Čestného členstva Českej chemickej spoločnosti RNDr. Dalme Gyepesovej, CSc. za jej dlhoročnú spoluprácu s ČSCH. Ocenenie bude odovzdané na 57. Zjazde chemických spoločností vo Vysokých Tatrách.

Marta Sališová

Evropský koutek



EuCheMS response to a Proposal for a DECISION OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL concerning the seventh framework programme of the European Community for research technological development and demonstration activities (2007–2013)

The **European Association of Chemical and Molecular Sciences, EuCheMS**, welcomes the European Commission's Proposal for research and technology for the period 2007–2013 including a detailed breakdown of the proposed budget of 67.8 billion euros.

The commitment to simplifying the bureaucracy of the application process is welcomed and the proposed doubling of the budget will go some way to addressing problems of proposal oversubscription. However, it is important that, whatever the agreed final budget, it is not used by EU Member States as justification for reducing national research spending.

Chemistry is central to eight of the nine themes identified within the proposed **Co-operation Programme**, and will make a significant contribution to the frontier research activities within the innovative **Ideas Programme**, the introduction of which is an effective response to concerns over the underfunding of basic science in Europe.

Training and career development, highlighted in the **People Programme**, is of primary importance if the vision of the European Research Area is to be realised, and young researchers and students are to secure fulfilling career opportunities in Europe. The foci of the **Capacities Programme** on encouraging and promoting entrepreneurial activities through support of the SME sector and creating effective and durable interactions between industry and academia are especially welcome.

As befits its transnational structure, EuCheMS especially welcomes activities to support and integrate the activities of scientists in new Member States, Candidate Countries and the continuing commitment to wider, global co-operation and collaboration.

EuCheMS recognizes the global importance to industry and consumers of sustainability, and for this reason has been active in the development of a **European Technology Platform on Sustainable Chemistry**. **Chemistry and chemists** have a crucial role to play in ensuring the safety and quality of the food supply, and EuCheMS is also involved in the development of an **ETP Food for Life**. The development of private/public partnerships in these, and other, areas will stimulate trans-national co-operation, create broad stakeholder consensus and optimise the economic and societal impacts of targeted research activities.

The European Commission's proposal for FP7 highlights the crucial importance of the **Triangle of Knowl-**

edge, comprising research and technology, education and innovation; these interacting sectors underpin the programme of the **EuCheMS First European Chemical Congress**, to be held in Budapest, 27–31 August 2006 www.euchems-budapest2006.hu

This meeting will bring together researchers in academia and industry, teachers, regulators, policymakers and consumers to discuss and debate the positive contribution that **chemistry** makes to the European economy and to highlight the benefits accruing to European consumers. An unique feature of the Congress will be the active involvement of seven Nobel Laureates, and their interaction with students and young researchers.



EuCheMS Lecture 2005

NEWS RELEASE

Professor R. A. Sheldon will deliver the 2005 EuCheMS lecture on '*Combining Organometallic Catalysis and Biocatalysis in Catalytic Cascade Processes*' at the XVIth FEChem Conference on Organometallic Chemistry, Eötvös University, Budapest, Hungary, 3–8 September, 2005.

The FEChem Conference, one of a series of EuCheMS Conferences, promoted by the EuCheMS Division of Organometallic Chemistry, will bring together chemical scientists from industry and academia and provide an international forum for presentation and discussion of frontier research in all aspects of organometallic chemistry. Further information is on the web at <http://comc16.elte.hu/>.

Roger Sheldon is head of the Biocatalysis and Organic Chemistry (BOC) Department at Delft University of Technology, The Netherlands.

Roger Sheldon's pioneering research in the Biocatalysis and Organic Chemistry group is directed towards the development of atom-efficient, low-waste processes for the synthesis of high added value chemicals, such as pharmaceuticals and chiral intermediates. His primary research interests encompass the application of catalytic methodologies -homogeneous, heterogeneous and enzymatic- in organic synthesis, particularly in relation to fine chemicals production. Further details of his work are on the web at <http://www.bt.tudelft.nl/content/boc/>.

The EuCheMS Lecture honours outstanding achievements by a European chemist. It also serves to enhance the image of European chemistry and to promote scientific cooperation in Europe. It rotates among EuCheMS member societies and is delivered at a scientific event outside the lecturer's own country.

pad

Odborná setkání

Druhé setkání olomouckých chemiků

V den, který by se zdál nevhodný pro pořádání jakékoli akce, tedy v pátek 13. (měsíce května 2005) proběhlo v aule Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci již druhé setkání olomouckých chemiků (1. setkání bylo realizováno 26. 11. 2003), o jehož uspořádání se i tentokrát postarala olomoucká pobočka České společnosti chemické.

Cílem setkání pracovníků a studentů sedmi chemických pracovišť PŘF a LF UP bylo předvést kolegům z oboru ty nejlepší výsledky a směry dalšího zaměření vědeckého výzkumu. Nešlo jen o maximální informovanost o řešených vědeckých problémech na chemických pracovištích, ale i o posílení spolupráce na studovaných tématech. Chemická pracoviště PŘF a LF UP v tomto roce zahajují nové období výzkumné činnosti, podpořené úspěchy v celostátní soutěži o finanční podporu MŠMT v podobě nových záměrů a výzkumných center.

Odborný program zahájil představením nejvýznamnějších výzkumných úspěchů v oblasti rozvoje analytických metod zaměřených na zvýšení citlivosti a selektivity zejména separačních technik prof. K. Lemr z Katedry analytické chemie. Zejména poukázal na to, že přístrojové vybavení a um našich analytiků dosahuje neuvěřitelných výsledků, kdy lze analyzovat konkrétní látky i v koncentracích odpovídajících výskytu jediné molekuly analytu na více než miliardu molekul ostatních látek v systému. Jako příklad mohou sloužit detekce prekurzorů bojových chemických látek v souvislosti s úmluvou o zákazu chemických zbraní. Na řešení této problematiky získala Katedra i mezinárodní grant agentury OPCW.

Další pracoviště představující své výsledky, Katedra anorganické chemie, prostřednictvím svého zástupce RNDr. P. Kopela informovala o svých úspěších v oblasti studia komplexních sloučenin využitelných v praktických aplikacích v oblasti čištění odpadních vod či využití jejich výhodných biologických aktivit. Doc. Klečková z téže Katedry seznámila přítomné s problematikou výuky učitele chemie. Mimo jiné zdůraznila nutnost výchovy mladé generace k zájmu o přírodní vědy, neboť jen tak se můžeme dočkat dalších úspěšných vědeckých pracovníků v našich řadách a snížit společenskou „chemofobii“.

Katedra biochemie, jedno z nejmladších chemických pracovišť, ústy svého zástupce doc. M. Šebely, představila trojlístek směrů svého výzkumného zaměření, orientovaného do oblastí proteinové chemie a proteomiky, biochemie a fyziologie obranných reakcí u rostlin a v neposlední řadě molekulární biologie a genetiky. Toto pracoviště dosahuje již tradičně značné úspěchy v oblasti studia izolace, strukturního uspořádání a vlastní funkce vybraných enzymů, přičemž tento výzkum je s dlouhodobou perspektivou směřován do oblasti ryze praktické, tedy využitelnosti geneticky modifikovaných rostlin v zemědělství.

Katedra fyzikální chemie existuje jako samostatné pracoviště teprve třetím rokem, ale výzkum provozovaný jejími členy je mimořádně bohatý, což dokládá i to, že pracovníci Katedry se podílejí na řešení dvou výzkumných záměrů a dvou výzkumných Center. Důležitou oblast výzkumu, zaměřenou na moderní nanotechnologické trendy, představil RNDr. R. Zbořil, který prezentoval významné úspěchy pracoviště (společného s Katedrou experimentální fyziky) v oblasti syntézy nanočástic oxidů železa, kde například v přípravě vzácné γ formy oxidu železitého drží toto pracoviště světový primát. Vystoupení druhého zástupce této Katedry, RNDr. M. Otyepky představilo pohled na zcela odlišnou oblast fyzikálně chemického výzkumu, na oblast teoretické a počítačové chemie, kde přes prozatím minimální materiální zázemí bylo dosaženo významných úspěchů v oblasti teoretického řešení interakce vybraných enzymů s jejich substráty, zaměřené nejen na vlastní pochopení mechanismů těchto biologicky významných dějů, ale též na možnosti modifikace enzymů s cílem zvýšení jejich katalytické aktivity např. při detekci a odbourávání halogenovaných uhlovodíků v životním prostředí.

I když Katedra organické chemie patří spíše k těm tradičním chemickým katedrám, její pracovníci patří věkově mezi nejmladší chemiky na naší Univerzitě, ale i přes tento věk dosahují významných úspěchů zejména v oblasti studia syntéz dusíkatých organických sloučenin, které hrají důležitou roli jak v živých organismech, tak i jako možná léčiva. Velmi nadějně jsou např. výsledky inhibičních studií vybraných fenacylsterů na *Mycobacterium tuberculosis*, či významné výsledky v oblasti studia vztahu struktury a biologické aktivity 3-hydroxy-4(1H)-chinolonů, jak předvedl ve svém nejen vědecky, ale i humorně pojatém prosluvu vedoucí této katedry doc. J. Hlaváč.

I chemické pracoviště Ústavu lékařské chemie a biochemie LF UP se ústy svého zástupce RNDr. Z. Dvořáka mohlo pochlubit skvělými výsledky své výzkumné práce. Vedle již dlouhodobých úspěchů v oblasti fytochemie zaměřené na oblast izolace a studia biologických účinků přírodních látek, řada preparátů se již dostala na pulty lékáren, se v poslední době stále více pozornosti na tomto chemickém ústavu věnuje studiu metabolismu léků a lékových interakcí, což je oblast, v dnešní době ohromného rozvoje výroby a vývoje nových léků, velmi zajímavá a z hlediska teoretického i aplikačního potenciálu mimořádně významná. V této oblasti je důležitá část výzkumu zaměřena mimo jiné na význam cytochromu P450 v metabolismu cizích látek.

Poslední prezentované pracoviště – Laboratoř růstových regulátorů – prostřednictvím svého vedoucího prof. M. Strnada, představilo poslední úspěchy plodného spojení mezi chemickými a biologickými obory, reprezentované zejména oblastí rostlinných hormonů – cytokininů a jejich syntetických analog, majících ohromné perspektivy v hu-

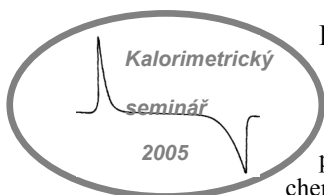
mánní medicíně závažných onemocnění. Toto špičkově vybavené pracoviště dosahuje tradičně špičkových vědeckých výsledků, které se snaží uplatňovat v praxi. Vždyť, kdo by neměl zájem o krémy proti stárnutí nebo krásné pokojivé rostliny.

Novým prvkem v setkání olomouckých chemiků byla krátká vystoupení zástupců sponzorujících firem Labicom, Merci, Pragolab a Chromspec. Výběr nebyl vůbec náhodný, sponzorské firmy nejsou jen důležitými dodavateli přístrojové techniky, laboratorního vybavení a chemikálií pro chemická pracoviště, ale v mnoha případech se i podílí na řešení dílčích problémů, jako např. fa Labicom v oblasti separačních technik nebo fa Pragolab v oblasti studia nanomateriálů.

Co napsat závěrem? Druhé setkání olomouckých chemiků ukázalo, jak ohromný kvalitativní skok olomoučtí chemici za uplynulé dva roky udělali. Publikují ve světově uznávaných časopisech s vysokými hodnotami impakt faktorů, navazují spolupráce s dalšími chemickými pracovišti po celém světě, které přináší velmi rychle další vědecké výsledky i světovou prestiž. V neposlední řadě jsou olomoučtí chemici velmi úspěšní i v oblasti získávání financí na svůj výzkum a to nejen financí ze zdrojů MŠMT či GA ČR, ale i financí poskytovaných mezinárodními grantovými agenturami. O budoucnost olomouckých chemiků tedy netřeba se bát a bude zajímavé, jaké nové úspěchy budou prezentovány na dalším setkání.

Máte-li zájem o další informace ze života olomoucké pobočky ČSCH navštivte naši www stránku na adrese: <http://fch.upol.cz/csch.htm>.

*Libor Kvítek a Michal Otyepka,
za organizátory*



Kalorimetrický seminář 2005

Ve dnech 23. – 27.5. 2005 pořádaly Společná laboratoř chemie pevných látek Univerzity Pardubice a Ústavu makromolekulární chemie Akademie věd ČR, Katedra obecné a anorganické chemie Fakulty chemicko-technologické a Odborná skupina chemické termodynamiky České společnosti chemické „27. Mezinárodní český a slovenský kalorimetrický seminář“.

Tato konference o termické analýze a kalorimetrii se sedmadvacetiletou tradicí se letos konala v České republice ve Svatce na Českomoravské vrchovině.

Organizační výbor (Ing. E. Černošková, CSc., SLCHPL, doc. Ing. Z. Černošek, CSc., doc. RNDr. J. Holubová, Ph.D. a doc. Ing. P. Mošner, Dr., KOAnCh FCHT, prof. Ing. Jindřich Leitner, DrSc. a Ing. Vladimír Pekárek, CSc., OS chemické termodynamiky ČSCH) připravil setkání 94 odborníků z vysokých škol, ústavů Akademie věd, elektrárenských a důlních společností a také zástupců sou-

kromých firem, které využívají kalorimetrii ke sledování kvality a testování různých materiálů. Vedle účastníků z České republiky a Slovenska se jednání zúčastnili i odborníci z Německa, Francie a Švýcarska.

Bylo předneseno 54 přednášek, jejichž společným jmenovatelem bylo využití a aplikace nejrůznějších kalorimetrických, termomechanických a termoelektrických metod v celé řadě vědních a technických oborů. Pětidenní jednání bylo rozděleno do tematických okruhů: anorganické, organické, biologické, nekystalické a stavební materiály. Odborného setkání se také účastnili s prezentacemi nejnovějších přístrojů a kalorimetrických technik zástupci prakticky všech předních světových firem zabývajících se výrobou kalorimetrických zařízení. Každý tematický okruh semináře byl zahájen plenární přednáškou k obecnější problematice daného tématu. Po ní následovaly kratší specializovanější přednášky. Na první pohled by se mohlo zdát, že problematika kalorimetrie a termické analýzy je velmi úzká. Jak však ukazuje širší témat tohoto semináře, opak je pravdou. Témata se pohybovala od akumulace energie v rostlinách přes termické vlastnosti skel a kinetiku krystalizace podchlazených tavenin až po tepelné vlastnosti stavebních a nátěrových hmot.

Cílem těchto kalorimetrických seminářů je vždy nejen prezentovat výsledky práce v daném oboru, ale i možnost seznámení se s ostatními možnými aplikacemi kalorimetrických metod a navázání nových kontaktů s kolegy. Velkým přínosem pro účastníky je i bohatá a neformální diskuse po celou dobu semináře. Důležitá a užitečná je i přítomnost zástupců firem zabývajících se výrobou kalorimetrických zařízení. Vedle seznámení se s nejnovějšími zařízeními a technikami, které firmy právě nabízejí na trhu, je neocenitelná také možnost konzultovat s přítomnými specialisty případné problémy s již provozovanými zařízeními.

Setkání se konalo v překrásném prostředí Slavičkova kraje, ve Svatce na Českomoravské vrchovině. Součástí semináře je již tradičně i kulturní akce. Letos účastníci navštívili hrad Pernštejn a zvýšenou cenou vstupného přispěli na jeho opravu po nedávném požáru.

Příští rok bude 28. Kalorimetrický seminář organizován ve spolupráci se slovenskými kolegy a bude se pravděpodobně konat v blízkosti Zvolena.

*Eva Černošková,
SLCHPL ÚMCH AV ČR a Univerzita Pardubice,
za kolektiv organizátorů*

5. Mezioborová konference mladých chemiků, biochemiků a biologů

V letošním roce se sešlo 114 přihlášek, které byly hodnoceny odbornou komisí na základě kvality předložených abstraktů sdělení. Na základě rozhodnutí poroty bylo nakonec na konferenci předneseno 34 vybraných soutěžních přednášek a vystaveno bylo 24 plakátových sdělení. Vedle toho účastníci vyslechli přednášky prof. Václava



Vítězové ročníku 2005 spolu s ředitelkou firmy Sigma-Aldrich s.r.o., Ing. Danielou Dörnerovou

Pačese, prof. Jiřího Damborského a prof. Libora Grubhoffera.

Úroveň všech soutěžních sdělení byla nadmíru vysoká a jako obvykle bylo těžké vybrat finalisty a ještě těžší vítěze. Odborná porota, která pracovala ve složení: MUDr. Jaroslav Blahoš, PhD, ÚEM AV ČR, Praha; prof. RNDr. Pavel Drašar, DSc., VŠCHT Praha; doc. Ing. Martin Fušek, CSc., Sigma-Aldrich s.r.o., Praha; doc. RNDr. Martin Kotora, PhD, PŘF UK, Praha; doc. Ing. Jitka Moravcová, CSc. VŠCHT Praha; RNDr. Šárka Pospíšilová, PhD, FN

Brno; RNDr. Ivo Starý, CSc, ÚOCHB, Praha; prof. RNDr. Jitka Ulrichová, CSc., LF UP, Olomouc, nakonec vybrala v kategorii vítězná plakátová sdělení práci kolegy Viléma Guryči (ÚMCH AV ČR/PřF UK) na téma: Monolitické stacionární fáze na bázi akrylamidu pro kapilární elektrochromatografii oligosacharidů.

Finalisty soutěže přednášek pro obor organická chemie a příbuzné byli:

Pavel Herman; PřF UK/ÚOCHB AV ČR, Praha
Petr Kočalka; ÚOCHB AV ČR/VŠCHT, Praha
David Nečas; PřF UK, Praha
Petr Sehnal; PřF UK/ÚOCHB AV ČR, Praha
Michal Valášek; PřF UK, Praha

Finalisty soutěže přednášek pro obor biochemie, biologie a příbuzné byli:

Gabriela Böhmová; PřF MU, Brno
Nikola Kostlánová; PřF MU, Brno
Branislav Kusenda; FN Brno
Petr Müller; MOÚ, Brno
Lukáš Spíchal; PřF UP, Olomouc

A absolutními vítězi soutěže o granty firmy Sigma-Aldrich (CZ) se stali David Nečas (přednáška na téma: *Niklem katalyzovaná aktivace: tvorba vs. štěpení C-C vazeb*) a Petr Müller (přednáška na téma: *Inhibitory CDK Roscovitin a Olomoucín II aktivují nádorový supresor p53 prostřednictvím transkripčního stresu*).

Vítězům gratulujeme a těšíme se na další ročník konference mladých. Pokud se chcete podívat na fotografie z konference, navštivte stránky <http://www.sigmaaldrich.com/czech>. Abstrakty sdělení zveřejnily Chemické listy v čísle 05/2005 viz http://chemicke-listy.vscht.cz/docs/full/2005_05_351-396.pdf.

maf

Akce v ČR a v zahraničí

rubriku kompiluje Lukáš Drašar, drasarl@centrum.cz

Rubrika nabyla takového rozsahu, že ji není možno publikovat v klasické tištěné podobě. Je k dispozici na webu na URL <http://www.konference.wz.cz/> a <http://www.csch.cz/akce9909.htm>. Pokud má některý čtenář potíže s vyhledá-

váním na webu, může se o pomoc obrátit na sekretariát ČSCH. Tato rubrika nabyla již tak významného rozsahu, že ji po dohodě přebírají i některé zahraniční chemické společnosti.

Střípky a klípky o světových chemících

Český vklad do historie světové chemie se jmenuje Bohuslav Brauner (1855–1935)

V letošním roce uplynulo 150 let od narození a 70 let od úmrtí vynikajícího představitele české chemie světového jména, doktora filozofie, univerzitního profesora Bohuslava Braunera.

Narodil se 8. května 1855 v Praze v zámožné rodině zemského advokáta již s „chemickou krví“, jak sám o sobě

napsal. Jeho prastrýc z matčiny strany Kaspar Neumann (1683–1737) byl lékárníkem a profesorem chemie v Berlíně a patří mezi spoluzakladatele vědecké farmacie. Braunerův děd Dr. Karel August Neumann (1771–1866), guberniální rada a jeden ze zakladatelů „jednoty pro povzbuzení průmyslu v Čechách“, působil jako profesor chemie na pražské polytechnice a univerzitě (1810–1820) a významně se zasloužil o rozvoj českého chemického (zvláště cukrovarnického) průmyslu. Jeho dcera Augusta

Braunerová, žena neobyčejně vzdělaná také v přírodních vědách (což bylo tehdy naprostou výjimkou), hovořila několika světovými jazyky a bylo její zásluhou, že se jim syn Bohuslav naučil již záhy v mládí, což mu později velmi prospělo při studiu odborné literatury a četných cestách po Evropě a Americe. Díky moderní rodinné výchově se Brauner stal po celý život také stejně dobrým sportovcem jako vědcem. Braunerovým otcem byl nadšený vlastenec a vlivný staročeský politik, slovanofil a spoluorganizátor Slovenského sjezdu v Praze v revolučním roce 1848, autor první formulace českých státoprávních požadavků vůči Rakousku (vyvazovacího zákona pro Království české), vídeňské vládě často velmi nepohodlný, nicméně uznávaný poslanec zemského sněmu i říšské rady Dr. František August Brauner (1810–1880). Proslulé jsou jeho výroky, že „historie českého národa je historií velezrady proti Habsburkům“ a „kdo chce vlastní vděk si získat, přizej doby nehledej“. V těchto rodinných souvislostech ještě dodejme, že sestrou našeho Braunera byla známá malířka-krajinářka Zdeňka Braunerová (1858–1934). S manželkou Lidmilou († 1929), adoptivní dcerou chemika a astronoma univ. prof. Vojtěcha Šafaříka, měl tři děti.

Po maturitě na malostranském reálném gymnáziu roku 1873 studoval Brauner na pražské technice u profesorů V. Šafaříka a F. Štolby a ještě jako posluchač uveřejnil svoji první odbornou práci „O atomech a mocenství některých prvků, jakož i o pravidlech v číslech atomových“ (1877). Současně byl zapsán také na univerzitě, kde tehdy přednášeli chemii němečtí profesori A. Lieben a E. Linnemann a fyziku E. Mach, známý také svými spisy filozofickými. Pro osobní neshody s některými z nich odešel Brauner na jeden rok do Heidelbergu, kde jej velmi vlídně přijal do své univerzitní laboratoře věhlasný chemik R. W. Bunsen. Po návratu do Prahy předložil dizertační práci a vykonal doktorské zkoušky z neoblíbené organické chemie (sám píše, že „odbyl doktorát“ a zřejmě to myslí doslovně), a ještě téhož roku 1880 odjel na další dvouletý studijní pobyt na univerzitu v Manchesteru k H. E. Roscoeovi. Do této doby spadá velmi důležitá událost pro celý další jeho život, je totiž navázal přímé kontakty s D. I. Mendělejevem, s nímž jej poté po dlouhá léta spojovalo důvěrné přátelství.

Po návratu domů se stal asistentem (adjunktem) chemického ústavu české univerzity (1882), příštího roku se habilitoval jako soukromý docent analytické chemie, v roce 1890 se stává mimořádným a po dalších sedmi letech řádným profesorem analytické (rozborové) a anorganické (neústrojné) chemie na České univerzitě Karlo-Ferdinandově. Zasloužil se rovněž o výstavbu nové budovy nynější přírodovědecké fakulty UK na Albertově (1905), kde pak působil až do odchodu na odpočinek roku 1925. Od roku 1890 byl členem České akademie a řady dalších čelných domácích vědeckých institucí, podílel se na zpracování řady hesel „Ottova slovníku naučného“ a také vychoval značný počet dobře školených anorganických a analytických chemiků. Připomeňme jen několik jmen jeho žáků a asistentů: Jindřich Křepelka, Alexandr Sommer-Batěk, Bohumil Kužma, Emil Švagr, Josef Švéda

a Otto Pročke. Bývalo právem univerzitních profesorů, že po dosažení věku 70 let, který byl hranicí pro penzionování, mohli sloužit ještě tzv. čestný rok. Pro Braunera je charakteristické, že tohoto práva nevyužil, ačkoliv se tehdy ještě těšil velmi dobrému zdraví. Po banálním nachlazení zemřel na zápal plic 15. února 1935.

Ve své bohaté vědecké činnosti se prof. Brauner zabýval jednak otázkami anorganické a obecné chemie, jednak pracemi analytické povahy. Především to byl výzkum prvků vzácných zemin, jejich atomových hmotností, sloučenin a postavení v periodické tabulce (např. v roce 1902 předpověděl existenci promethia, objeveného až roku 1945). Sám a se svými žáky stanovil atomové hmotnosti ceru, lanthanu, praseodymu, neodymu, thoria, telluru a cínu. Již v 80. letech 19. století předpověděl existenci izotopů a v roce 1888 navrhl používat jako základ relativních atomových hmotností kyslík namísto dosud užívaného základu vodíkového. Tento návrh byl všeobecně zaveden počátkem 20. století a platil až do roku 1961.

Největší přínos B. Braunera však spočívá především v tom, že byl jedním z prvních, kdo pochopil zásadní význam Mendělejevova zákona a periodické soustavy prvků pro chemii, a to ještě v době, kdy je vědecký svět přijímal chladně a skepticky. Jako jeho přesvědčený stoupenec a propagátor přispěl svými pracemi nemalým dílem k tomu, že se objevu dostalo uznání nejen u nás, ale také v západních evropských zemích, kde díla slovanských badatelů mnohdy nenašla příznivou odezvu. Velmi poučná je stať, kterou Brauner napsal v roce 1907 při příležitosti Mendělejevovy smrti do časopisu „Pokrokové revue“. Cenná je nejen jedinečným zhodnocením významu díla ruského učenice, které zde podal jako jeho dlouholetý přítel a pokračovatel, nýbrž i mistrným pohledem na vývoj a tehdejší stav chemie. Esej je zájemcům přístupná v knihovnách v publikaci „Dopisy Dmitrije I. Mendělejeva českému chemiku Bohuslavu Braunerovi“ (Technicko-vědecké vydavatelství, Praha 1952). Osobní vztahy Mendělejeva a Braunera se však neomezily na pouhou výměnu dopisů, ale byly dotvrzeny i dvojí Braunerovou návštěvou v Petrohradě a Mendělejevovým pobytem v Praze. Že to nebyly pouze formální návštěvy, ba právě naopak, je patrné z každé řádky Braunerových vzpomínek.

Braunerovo obsáhlé literární dílo představuje zhruba na 170 vědeckých článků a publikací, jejichž je autorem nebo spoluautorem. Jen v období let 1877 až 1889 publikoval více než dvě desítky původních prací, jejichž pouhé názvy svědčí o mnohostranných výzkumných zájmech tvůrce (O určování arsenu, O fluorescenci, O určování kobaltu, O atomové váze beryllia, Účinek kyanatanu stříbrného na isobutyljodid, O volném fluoru, O atomové váze ceria, Příspěvky k chemii vzácných zemin – soubor pojednání. O hutnotě roztoků sulfátu ceria, O účinku sírovodíku na kyselinu arseničnou, O oklusi kyslíku ve stříbře, O základní jednici váh atomových I. a II., O volumetrickém určování telluru, Experimentální studie o periodickém zákonu, aj.). Do prestižního díla „Handbuch der anorganischen Chemie“ (1904–1910) napsal rozsáhlé kapitoly o stanovení atomových hmotností jednotlivých prvků;

jinými významnými pracemi jsou obsáhlá stat' o prvcích vzácných zemin, kterou napsal se svým žákem, asistentem a posléze nástupcem prof. J. Křepelkou do Votočkovy „Chemie anorganické“ a pro studenty určená „Analysa kvalitativní pro posluchače české university“ (1919).

Je mimo jakoukoliv diskusi, že Bohuslav Brauner byl vedle Jaroslava Heyrovského největším chemikem, jakého náš národ dosud dal světu. Cizina ocenila jeho vědecké dílo několika čestnými doktoráty na zahraničních univerzitách, řádným členstvím v mnoha učených společnostech (American Chemical Society, Owens College Chemical Society aj.) i Řádem čestné legie Francouzské republiky. Jako člen Výboru pro chemické prvky působil i jako předseda neformálního podvýboru pro atomové hmotnosti. O jeho vědeckém postavení svědčí i činnost ve sboru navrhovatelů na Nobelovu cenu za chemii.

Brauner je dnes v zahraničí téměř zapomenut. Jeho zásluhy o stanovení atomových hmotností prvků se pokusil připomenout světové chemické veřejnosti krátký článek v časopise Mezinárodní unie pro čistou a aplikovanou chemii (IUPAC) Chemistry International: Peiser H. S., Kahovec J.: Chem. Int. 18, 81 (1996).

Bohumil Tesařík

Aforizmy, citáty a moudrosti Alberta Einsteina (1879–1955)

Princip relativity (1905 a 1916) podstatně změnil naše chápání souvislosti mezi prostorem a časem, a podal důkaz rovnocinnosti hmoty a energie. Tato teorie však byla na počátku minulého století ještě příliš převratná a Einsteino-vi byla udělena Nobelova cena za fyziku teprve roku 1921. Nikoliv však za teorii relativity, ale za jeho objevné práce o fotoelektrickém jevu. V r. 1905 získal švýcarské občanství a působil pak v Žürichu jako profesor fyziky a matematiky, v letech 1911–1912 pracoval v Praze na tehdejší německé univerzitě a v. 1914 byl jmenován ředitelem Fyzikálního institutu císaře Viléma v Berlíně. V r. 1933 odešel Einstein na protest proti nacistickému antisemitismu do USA. V posledních letech své vědecké dráhy pracoval na Institute of Advanced Study v Princetonu na jednotné teorii gravitačních a elektromagnetických polí, práci však už nedokončil a zde také r. 1955 zemřel.

Einstein nebyl pouze velký fyzik, ale také angažovaný humanista, pacifista a světoobčan. Při své ohromující genialitě a hloubavosti měl však také smysl pro humor a rád se věnoval hudbě. Na veřejnosti byl často pokládán za „enfant terrible“. O jeho velmi složité i rozporné osobnosti hodně napovídají jeho aforizmy, moudrosti a citáty, které značně přispěly k jeho popularitě. I když jsou často překvapivé a nekonformní, umožňují nahlédnout do nitra člověka s mimořádným darem pronikavého a tvůrčího myšlení. Uvádím zde některé z nich.

Budeme potřebovat zcela nové způsoby myšlení, má-li lidstvo přežít.

Dokud existuje na světě jediné nešťastné dítě, nelze mluvit o žádných velkých objevech ani o opravdovém pokroku.

Čím méně vědomostí člověk má, tím více je vzdálen od Boha.

Nic není krásnějšího než to, co je záhadné. Odtud se rodí veškeré opravdové umění a věda.

Fantazie je důležitější než vědění, neboť vědění je omezené.

Kdo se nedokáže divit něčemu, je už duševně mrtev.

Pro svou práci potřebujeme dvě vlastnosti: neúpornou vytrvalost a ochotu zahrnout opět cokoli, na čem jsme dlouho pracovali.

Teorie znamená, že víme všechno, ale nic nefunguje. Praxe, to je, když funguje všechno, ale nikdo neví proč.

Je obtížnější rozbít předsudek než atomové jádro.

Genius je člověk, který dělá zcela obyčejné věci zcela neobyčejně.

Pořádek potřebuje jen hlupák, genius zvládne chaos.

Od okamžiku, kdy matematici vpadli do mé teorie relativity, nerozumím jí ani já sám.

Na chemii je nejhorší to, že je příliš těžká i pro chemiky.

LITERATURA

- Balibar F.: *Albert Einstein, physique, philosophie, politique*. Vyd. du Seuil, Paříž 1979.
- Anonym: *Chimia* 33, 347 (1979).
- Valas A., *Zpravodaj (Švýcarsko)* 38, 30 (2005).
- Janko: *Albert Einstein, Aphorismen, Zitate, Weisheiten, Sprüche*. www.janko.at/Zitate/Autoren/Einstein.htm.

Ivan Vavruch

Bulletin představuje

Novinky v molekulárním modelování na PC

Kalifornská společnost Wavefunction představila novou verzi svého programového vybavení z rodiny Spartan. Spartan je jedním z populárních produktů pro výpočetní chemii na PC, který je k dispozici jak pro Windows, tak pro Unix, Linux a Mac.

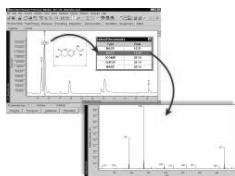
Použití Spartanu je úžasně jednoduché. Inovované uživatelské rozhraní je nyní jednoduché na ovládání. Každý

uživatel Spartanu může zakoupit za nevelký peníz „software maintenance package“, který umožní, že jeho program bude stále „v poslední verzi“. Pro uživatele organizuje firma bezplatné semináře a to i v Evropě. Zájemce může Spartan vyzkoušet v ostré verzi ve své laboratoři po dobu dvou týdnů.

Navštivte <http://www.wavefun.com/> a buďte v kontaktu s posledním vývojem.

pad

ACD/Labs oznamuje aktivní propojení chromatografických a spektrálních dat v rámci portfolia ACD/SpecManager



Kanadská společnost Advanced Chemistry Development, Inc., (ACD/Labs) uvedla na trh poslední produkt pro portfolio ChemAnalytics™, které umožní přímé propojení chromatografických a nejruznějších spektrálních dat jak v rámci

jejich zpracování, tak v databázích.

V centru zájmu procesu hledání struktur látek je smysluplné propojení všech spektroskopických a analytických dat, používaných při této činnosti. Na základě požadavku zákazníků vyvinula společnost ACD/Labs flexibilní hierarchický systém pro spektrální a chromatografická data, který to umožňuje. Tak např. lze propojit sérii dat z NMR, MS a IČ spekter s jednotlivými chromatografickými maximy, např. u HPLC, nemluvě o tom, že s touto informací jsou aktivně propojeny i chemické struktury. Nová možnost tak logicky propojuje např. produkty ACD/SpecManager, 1D NMR Manager, 2D NMR Manager, Chrom Manager, MS Manager, UV-IR Manager a Curve Manager. Takové propojení najde použití např. v pevně konstruovaných laboratorních záznamech v „electronic lab notebooks (ELNs)“. Takové propojení může pak fungovat pro jednoho uživatele, ale i v celém koncernu. Navíc lze použít i architekturu založenou na Oracle®-client-server. Připojení systému ACD/Workflow Manager umožní i zacházet přímo s reálnými vzorky a jejich daty v koordinaci. ACD/Automation Server přidá tomuto komplexu možnost automatizovaného sběru dat, jejich zpracování a vkládání do databázi.

pad



RRA rozšířila nabídku polarimetrů

Firma reprezentující na poli polarimetrů a polarimetrických sacharimetrů světový standard „první ligy“, Rudolph Research Analytical z New Jersey (RRA), vyhověla požadavkům trhu a přišla na letošní výstavě Pittcon s novými, zjednodušenými typy polarimetrů Autopol II a Autopol III. I to přispívá k faktu, že podle průzkumu agentury Emmes byly polarimetry RRA v minulých letech nejpoužívanějšími přístroji svého druhu v USA.

AUTOPOL II je konstruován jako automatický polarimetr pro obecné použití pro laboratoře, jejichž rozpočet je limitován provozem, laboratoře potravinářské a studentské. RRA reprezentuje prvovýrobce a novátora na poli polarimetrických přístrojů, který používá namísto běžných plastových dichroických filtrů Polaroid (Plastic Dichroic

Sheet Polarizers) s životností mezi 3 a 5 lety, vysoce kvalitní Glanovy Thompsonovy kalcitové polarizátory, stejné, jaké se používají u modelů s nejvyšší přesností a jejichž funkce je garantována po celou dobu životnosti polarimetru. Autopol II je vybaven vnitřním měřením teploty vzorku v rozsahu 10–40 °C a přesností ±0,1 °C, jež může být zobrazena, tištěna či dále počítačově zpracována (k dispozici jsou dva sériové porty RS232 a jeden paralelní). Nicméně, provedení přístroje Autopol II jej nepředurčuje k měření, kdy je nutno vydat analytický certifikát s udáním teploty. Přístroj je vybaven možností měřit při dvou pevně určených a snadno měnitelných vlnových délkách 589 nm (sodíková čára D) a 546 nm. Dodává se s tzv. Standard Accessories Package (100 mm kyveta, 2 náhradní wolframové lampy a kalibrační terčik), který je možno v objednávce alternativně změnit na Calibration Package (obsahující i 200 mm kyvetu, kalibrační hranol a certifikát návaznosti na měření polarimetrického standardu). Přístroj měří přímo v jednotkách optické rotace, specifické rotace, koncentrace a cukerných stupňů °Z (ISS) s rozsahem ± 89 ° (úhlových stupňů optické rotace), rozlišením 0,01 °, reprodukovatelností 0,01 ° a přesností 0,01 ° (0,03 °Z (ISS)). Citlivost přístroje umožňuje měřit vzorky o propustnosti až do 0,01 %. Elektronika přístroje je vybavena funkcemi kalendář a hodiny, které jsou bateriově zálohovány a jejichž údaj se odesílá jak na tiskárnu, tak do počítače.



Větší bratříček AUTOPOL III je automatický polarimetr se dvěma vlnovými délkami, určený pro farmaceutickou praxi a výzkumnou činnost. Jeho teplotní čidlo je

pokryté mikronovou vrstvou skla a vydrží i styk s několikamolárním roztokem kyseliny chlorovodíkové. Výstup z přístroje splňuje požadavky cGLP/GMP a zahrnuje i údaj o teplotě. Rozšířena je i nabídka balíčků příslušenství pro tento model.

Ke klasickým polarimetrům Autopol IV, sacharimetru AUTOPOL 880 (který měří při 589 nm a 880 nm, podle požadavků ICUMSA) a špičkovému přístroji Autopol V tak přibyly modely pro „každodenní“ použití. Polarimetry doplňuje nabídka moderních refraktometrů řady J se zabudovaným elektronickým ovládním teploty (topení a chlazení) pro měření mezi 10 °C až 70 °C, kdy je temperován jak hranol, tak protilehlý dosedající povrch. Kompaktní modely J157 (pro 1,33–1,53 RI) a J257 (1,33–1,70 RI) vyřadily z trhu bez jakékoliv milosti refraktometry používající oběhové termostaty.

Je záhodno dodat, že firma vyrábí i automatizované systémy, kde se z automatického dávkovače odebírají vzorky, které jsou měřeny na hustotu, index lomu, optickou rotaci, barvu. Měřené údaje jsou zaznamenávány firmním programem do médií počítače.

pad

Merck Index na webu

Chemiky jistě potěší, že populární Merck Index je k dispozici „online“. O jeho použití probíhají na webu webináře, jejichž zápis si může uživatel stáhnout, pokud se jich nestihne zúčastnit. Stačí se jen podívat na <http://www.cambridgesoft.com/>.

Co se člověk dozví? Například :

- srovnání produktů The Merck Index Internet Edition vs. Paper Version,
- vyhledávací techniky,
- zápisy popisující jednotlivé sloučeniny,
- dodatkové tabulky,

- seznam organických reakcí označovaných jmény autorů.

Poslední vydání „knihy“ The Merck Index 13.4 obsahuje popis 10 250 sloučenin (monographs), plus 230 nových, plus 540 sloučenin, které se „vrátily“ z 12. dílu. „Merck Index database“ je strukturně prohledávatelná encyklopedie chemických sloučenin, lékových substancí a biologicky významných látek. Popis jednotlivých „hesel“ obsahuje chemické, generické a obchodní názvy; registrační čísla (registry numbers), fyzikální data a odkazy na literaturu; strukturní vzorec s vyznačením stereochemie; údaje o toxicitě a terapeutickém použití.

pad

Členská oznámení a služby**Docenti jmenovaní od 1.10.2004 do 1.6.2005**

Doc. Ing. Luboš BABIČKA, CSc.
pro obor zemědělská chemie, ČZU Praha

Doc. RNDr. Petr BARTÁK, Ph.D.
pro obor analytická chemie, UP Olomouc

Doc. RNDr. Zuzana BÍLKOVÁ, Ph.D.
pro obor analytická chemie, Univerzita Pardubice

Doc. Ing. Roman BULÁNEK, Ph.D.
pro obor fyzikální chemie, Univerzita Pardubice

Doc. Ing. Jaroslav BYSTRANSKÝ, CSc.
pro obor chemická metalurgie, VŠB-TU Ostrava/VŠCHT Praha

Doc. RNDr. Ivan FORTELNÝ, CSc.
pro obor technologie makromolekulárních látek, UTB Zlín/AV ČR

Doc. Ing. Libor HAVLÍČEK, CSc.
pro obor organická chemie, UP Olomouc/AV ČR

Doc. Mgr. Bořivoj KLEJDUS, Ph.D.
pro obor analytická chemie, UP Olomouc/MZLU Brno

Doc. Ing. Martina KLUCÁKOVÁ, Ph.D.
pro obor fyzikální chemie, VUT Brno

Doc. Ing. František KOVANDA, CSc.
pro obor chemie a technologie anorganických materiálů, VŠCHT Praha

Doc. RNDr. Oldřich LAPČÍK, Dr.
pro obor biochemie, VŠCHT Praha

Doc. Ing. Jaromír LEDERER
pro obor chemické a energetické zpracování paliv, VŠCHT Praha/VÚACH Litvínov

Doc. Ing. Martin LÍŠAL, CSc.
pro obor fyzikální chemie, VŠCHT Praha/AV ČR

Doc. Ing. Daniela PAVLÍKOVÁ, CSc.
pro obor agrochemie a výživa rostlin, ČZU Praha

Doc. Dr. Ing. Dalibor VOJTĚCH
pro obor metalurgie, VŠCHT Praha

Profesoři jmenovaní s účinností od 1. května 2005

Prof. Dr. Ing. Karel BOUZEK
pro obor anorganická technologie, na návrh Vědecké rady Vysoké školy chemicko-technologické v Praze

Prof. Ing. Dalimil DVOŘÁK, CSc.
pro obor organická chemie, na návrh Vědecké rady Vysoké školy chemicko-technologické v Praze

Prof. Ing. Jan Evangelista DYR, DrSc.
pro obor biochemie, na návrh Vědecké rady Vysoké školy chemicko-technologické v Praze

Prof. RNDr. Ivo FRÉBORT, CSc., Ph.D.
pro obor biochemie, na návrh Vědecké rady Univerzity Karlovy v Praze

Prof. RNDr. Bohuslav GAŠ, CSc.
pro obor fyzikální chemie, na návrh Vědecké rady Univerzity Karlovy v Praze

Prof. Ing. Jan JOHN, CSc.
pro obor jaderná chemie, na návrh Vědecké rady Českého vysokého učení technického v Praze

Prof. Ing. Jindřich LEITNER, DrSc.
pro obor materiálové inženýrství, na návrh Vědecké rady Vysoké školy chemicko-technologické v Praze

Prof. Ing. Pavel LEJČEK, DrSc.
pro obor metalurgie, na návrh Vědecké rady Vysoké školy chemicko-technologické v Praze

Prof. RNDr. Vladimír MIKEŠ, CSc.
pro obor biochemie, na návrh Vědecké rady Masarykovy univerzity v Brně

Prof. RNDr. Miroslav RAAB, CSc.
pro obor technologie makromolekulárních látek, na návrh Vědecké rady Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně

Prof. Ing. Igor SCHREIBER, CSc.
pro obor chemické inženýrství, na návrh Vědecké rady Vysoké školy chemicko-technologické v Praze

Prof. RNDr. Miloš TICHÝ, CSc.
pro obor biochemie, na návrh Vědecké rady Univerzity Karlovy v Praze

Prof. Ing. Karel ULBRICH, DrSc.
pro obor makromolekulární chemie, na návrh Vědecké rady Vysoké školy chemicko-technologické v Praze

Prof. Ing. Miroslav VLČEK, CSc.
pro obor anorganická chemie, na návrh Vědecké rady Univerzity Pardubice

Prof. Ing. Jiří VONDRÁK, DrSc.
pro obor elektrotechnická a elektronická technologie, na návrh Vědecké rady Vysokého učení technického v Brně

Prof. Ing. Tomáš WÁGNER, CSc.
pro obor anorganická chemie, na návrh Vědecké rady Univerzity Pardubice

Latinské oslovení akademických funkcionářů

Quod bonum, felix, faustum, fortunatum que sit. (QBFFFQS)

Nechť je to k dobru, štěstí, blahu a zdaru.

magnificence, vznešený – (neskl.) rektor, prorektor jen v případě, kdy rektor není osobně přítomen

spectabilis, slavný – (neskl.) mn. č. spectabiles, prorektor je-li přítomen rektor, děkan, proděkan jen v případě, kdy děkan není osobně přítomen

maiestas, důstojný – (4. p. maiestatem, 5. p. vir maiestatis) prorektor, je-li rektor přítomen

honorabilis, ctihodný – (neskl.) mn. č. honorabiles, proděkan, je-li děkan přítomen; též vedoucí katedry, profesori

honestus, vážený – (4. p. honestum, 5. p. vir honestissime) promotor

Chemik na cestách

Několik postřehů z auditu v Číně

Stanislav Rádľ

Zentiva, U kabelovny 130, 102 01 Praha 10

Před několika lety se změnila strategie firmy Léčiva a firma se za účelem vývoje a výroby vlastních účinných látek (API) stala hlavním akcionářem Výzkumného ústavu pro farmacii a biochemii. Tato akvizice začíná nést své plody ve formě zavádění nových generik do výroby v současné firmě Zentiva. V dubnu byla na trh uvedena pod názvem Torvacard vlastní generická verze světově nejúspěšnějšího léčiva, hypolipidemika atorvastatinu¹. Protože se blíží i zavedení dalších generik, nastala doba, kdy si Zentiva musí formou auditu ověřit dodavatele klíčových meziproduktů. Cílem takového auditu je prověřit dodavatele jak po stránce výrobní (výrobní zařízení, výrobní postup, analytická kontrola), tak po stránce dokumentační. Za tímto účelem jsem byl členem týmu provádějícího takový audit v Číně.

V povědomí většiny Čechů je Čína pokládána za producenta levného (rozuměj podřadného) zboží. Když jsem poprvé navštívil každoroční veletrh farmaceutických meziproduktů (CPhI), byl jsem překvapen China pavilonem, který se rozkládal na zhruba třetinu výstavní plochy a nabí-

zel možná 90 % položek na veletrhu nabízených. V posledních letech se tento podíl ještě zvýšil a podstatně se zlepšila i úroveň prezentace jednotlivých firem. To bohužel vedlo k situaci, kde na základě takto získaných informací, ale ani na základě firemních internetových stránek nelze prakticky posoudit skutečnou úroveň jednotlivých dodavatelů. Informační materiály všech firem se hemží výrazy ve stylu „Our highly experienced team develops the best procedures to provide you the most excellent service“, atd. Letos v dubnu jsme se tedy vydali ověřit, jak to ve skutečnosti u našich východních partnerů vypadá. Nu a protože některé poznatky považuji za zajímavé, dal jsem dohromady tento text.

Během dvoutýdenního pobytu jsme navštívili 6 firem (5 v oblasti Šanghaje a 1 v Pekingu) dodávajících meziprodukty několika vyvíjených i již vyráběných generik. Šlo vesměs o firmy soukromé, 50 až 3 tisíce zaměstnanců (polostátní akciová společnost Hisun) o dosti různé úrovni. Z informací kolegů, kteří již některé čínské závody navštívili, jsem měl hrubou představu o situaci, v mnoha ohledech jsem byl ale překvapen, někdy až šokován. Kromě dvou byly ostatní navštívené firmy vybaveny minimálně na evropské úrovni, a to jak ve výrobě, tak v analytické části. Ve všech firmách v oblasti Šanghaje byla vidět na naše poměry nebývalá investiční aktivita. Prakticky vše

bylo vybudováno v posledních několika letech a vnitřní zařízení bylo až na výjimky na vysoké úrovni. Většina analytických přístrojů byla od renomovaných světových výrobců a jejich množství bylo zvláště u větších firem zářející. Oba výrobci našeho meziprojektu pro atorvastatin měli s výrobou a navíc nové výrobní haly s nebyvalou kapacitou. Protože se při výrobě tohoto meziprojektu musí stupeň asymetrické redukce provádět za nízké teploty, je tento stupeň z výrobních hledisek dost náročný a z hlediska investic velice nákladný. U obou navštívených výrobců bylo vše řešeno velmi velkoryse; jeden z nich měl v nové hale kotle pro práci při $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ (8 kotlů o objemu 2 m^3 , 8 kotlů o objemu 3 m^3), druhý dokonce pro práci při $-95\text{ }^{\circ}\text{C}$. Přitom v obou případech tyto nové haly nebyly zatím využívány a čekalo se na větší objednávky po vypršení patentové ochrany v klíčových zemích. Základní suroviny jsou prakticky bez výjimky z čínských zdrojů a běžně se vyrábějí i dost základní suroviny přímo v závodě. V případě atorvastatinu jde i o činidla u nás považovaná za komodity, například Raneyův nikl, diethylmethoxyboran, LDA (z lithia vyrábí butyllithium a z něj LDA). V jednom ze závodů si vyráběli dokonce i vodík. Vždy byl zálohován zdroj elektrické energie minimálně jedním okruhem z generátorů, největší z navštívených podniků měl vlastní tepelnou elektrárnu. Co mne překvapilo záporně, byla nízká schopnost se dohodnout v angličtině. Ve větších podnicích bylo vždy několik absolventů prestižních západních univerzit zastávajících většinou manažerské funkce, kromě nich ale téměř nikdo anglicky nejen nemluvil, ale ani nebyl schopen rozumět. Nedovedl jsem si představit práci takových chemiků s chemickou literaturou. Z diskuse ale vyplynulo, že kromě firmy Hisun ostatní firmy získávají syntetický postup z některé z univerzit nebo z Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry². Výzkumní pracovníci firmy Hisun mají ale elektronický přístup prakticky k veškeré světové literatuře včetně Chemical Abstracts. O efektivitě lze ale vzhledem k jazykové vybavenosti většiny pracovníků dle mého názoru pochybovat.

Z našeho předchozího korespondenčního styku se nám často jevily čínské firmy nepřilíživě spolehlivé. Když jsme od nich žádali nějaké informace, často se nám je nedařilo z nich na dálku získat. Až na místě jsme ale zjistili, že problém spočívá často v tom, že čínští partneři vlastně ani nevěděli, co od nich chceme. V přímých jednáních se nám několikrát stalo, že slíbili požadované informace poslat a až po důkladnější diskusi jsme zjistili, že vůbec nepochopili, co se od nich žádá. Protože ale považují za nepřipustné cokoli odmítnout, raději vše slíbí.

Samozřejmě mám z Číny zajímavé poznatky týkající se nejen navštívených firem, ale i z jiných oblastí. Všichni k nám byli velmi vstřícní a byli ochotni se bavit prakticky o všem, pokud nejde o oblast politiky. Na všech bankovkách, se kterými jsme přišli do styku, je dosud „chairman Mao“, celkem často ho mají i na různých medailoncích. Řidič jedné z firem měl za předním sklem typicky čínský červený amulet s kovovým srdcem, na jedné straně s podobiznou svého syna a na druhé straně s portrétem Maa. V době naší návštěvy byl v Číně také šéf Kuomintan-

gu z Taiwanu a tak jsme se osmělili se zeptat i na toto téma. Všichni vítali vše, co by mohlo vést k normálním vztahům s Taiwanem, neopomněli ale zdůraznit, že jde o tradiční čínskou provincii a ne o samostatný stát.

V Šanghaji a okolí je vidět ohromný pokrok. Vlastní Šanghaj je nazývána Manhattan východu a opravdu střed města tak vypadá. Na několika kilometrech je na břehu řeky Huangpu kromě známé siluety televizní věže velké množství výškových budov, hlavně hotelů a administrativních budov. Všude je vidět horečná stavební činnost. My jsme přímo z letiště jeli do naší první zastávky města Changzhou. Cesta trvala zhruba 5 hodin po moderní dálnici mající na výjezdu z Šanghaje až 5 pruhů, které se postupně měnily na 3 pruhy v každém směru. Kolem dálnice bylo možné celou dobu vidět pouze tři stavy; zcela nové továrny nebo budovy, čilý stavební ruch, nebo bourání starých budov. Podobně čilý stavební ruch jsme viděli i v okolí měst Changzhou a Taizhou. Tam jsou vybudovány ohromné průmyslové zóny soustřeďující určitý druh průmyslu na jednom místě. Přitom např. objekty samotné firmy Hisun zabíraly plochu v desítkách km^2 . Obdobný vývoj jako v oblasti Šanghaje je i v Pekingu a blízkém okolí. Tady ale vznikají hlavně administrativní centra a naopak je snaha některé typy starší průmyslové zástavby odstranit. Jedna z velkých pekingských tříd se jmenuje chemická, protože tam ještě nedávno byl soustředěn chemický průmysl. Nyní tam po něm není ani památky a staví se tam ohromné administrativní centrum. V souvislosti s chystanou olympiádou se modernizuje v Pekingu veškerá infrastruktura, vedle stávajícího letiště se např. staví nová plocha a napočítali jsme tam 54 velkých jeřábů.

Během pobytu v Číně jsme byli ubytováni ve 3 hotelích, jejichž úroveň byla vysoká a ceny zhruba poloviční než v západní Evropě. Pokoje byly velmi dobře vybavené, v rámci minibaru nebo v koupelně byly nabízeny i prezervativy. Samozřejmým zařízením každého pokoje je televizor s velkou nabídkou domácích (13 centrálních programů, 9. kanál vysílá anglicky) i zahraničních programů (BBC, NBC, CNN), stejně jako připojení na vysokorychlostní internet. Běžnou součástí hotelů není sice bazén, ale zato je tam k dispozici tradiční čínská masáž. Zajímavou zkušeností je téměř dvouhodinová tzv. masáž nohou. Během důkladného macerování nohou ve speciálním roztoku vám sličná dívčina neuvěřitelnou silou na hranici bolestivosti probírá akupresurní body na zádech. Poté jsou nohy vysvobozeny z lepkavé hmoty a nastává obdobné probírání akupresurních bodů na chodidlech, lýtcích a stehnech. Absolvovali jsme tuto proceduru dvakrát v různých masážních salonech a technika se v maličkostech lišila. V jednom z nich používali dokonce k masáži malé dřevěné paličky.

Samostatnou kapitolou je v Číně doprava. Ve velkých městech jsou široké několikapruhové třídy oddělené od 1–2 pruhů pro kola a rikši. I v těchto pruzích se ale pohybují automobily, pro které je to jediný způsob, jak odbočit. Celkově je doprava ve městech téměř celý den velice hustá a nepřehledná. Na dálnicích se při vjezdu vybere karta, která se při výjezdu odečte a zaplatí se podle ujetých kilo-

metrů. Dálniční ukazatele a upozornění jsou vždy jak v čínštině, tak v angličtině. Na silnicích jezdí kdeco, zvláště ve městech jsou vidět i podivná vozidla vypadající na samovýrobu a také mnoho rikš. Většinou ale jde o prakticky nové vozy všech možných evropských a amerických značek, většinou vyráběných přímo v Číně. Horší je to s kázní jak řidičů, tak chodců. Na dálnici se řidiči často usadí v levém pruhu a lze je předjet pouze vpravo. Často dělají myšky ve všech dostupných pruzích, v případě zúžení si zásadně nedávají přednost a jedou „plech na plech“. Chodcům řidiči vůbec nedávají přednost a v několika případech jsme byli svědky velice bezohledného chování automobilistů vůči řidičům rikš. Hned po motoru je nejpoužívanější součástí auta houkačka. Na druhou stranu se svícením to příliš nepřehání, prakticky za tmy jedou některá vozidla bez osvětlení. Největším překvapením bylo, když jsme na dálnici vjížděli do tunelu a z něj v protisměru vyjela neosvětlená rikša vezoucí svazek nejméně pětimetrových trubek. Pokud tedy mohou své dojmy shrnout v doporučení, tak tedy v žádném případě bych nedoporučoval se v Číně spolehnout na to, že se lze po Číně jako v běžných civilizovaných zemích bezpečně pohybovat v zapůjčeném automobilu.

Co se týká letecké vnitrostátní dopravy, letiště jsou na velmi vysoké úrovni a od těch mezinárodních jsou k nerozeznání. Ve městě Ningbo jsem na letišti poprvé viděl automat na dobíjení mobilních telefonů. Automat měl nepřeberné množství konektorů a po vhození mince se připojený telefon odložil na stojánek a nechal se dobíjet. Letadla jsou i na vnitrostátních linkách většinou od firem Airbus a Boeing, nevyšiml jsem si žádných starších letadel vyráběných v bývalém Sovětském svazu. Jediný negativní poznatek týkající se letecké dopravy se týkal přísného zákazu převážení alkoholu v příručních zavazadlech. My jsme o něm samozřejmě nevěděli a z důvodů desinfekce jsme měli v placaticích příslušné desinfekční prostředky. Rentgen samozřejmě kovové nádoby odhalil a byli jsme tázáni, co to je. Po vysvětlení a důkladném očichání obsahu bylo zřejmé, že ani slivovici ani fernet neznají. My jsme jim tedy ukázali, že je to pitné a doufali jsme, že tím je to vyřízené. Bylo nám ale vysvětleno, že se alkohol nesmí vůbec na palubu brát a tak jsme obsah zkonzumovali. Nebylo to nepřijemné, alespoň jsme v letadle usnuli. Stinnou stránkou ale bylo, že žádný pro nás pitný alkohol jsme během několika dní nesehnali a tak jsme museli desinfikovat nedobrym místním destilátem z rýže.

Zvláště pohostinní k nám byli v oblasti gastronomické. Nu a protože by bylo škoda v Číně neochutnat pravou „činu“, byl jsem ochoten poměrně dost experimentovat. Musím předeslat, že až na v kyselém nálevu podávané slepičí pařáty servírované včetně drápů jsem ochutnal vše. Obecně strava v oblasti Šanghaje je dosti ostrá a velice mastná, v Pekingu jsme strávili pouze 3 dny a nelze tedy zobecňovat, ale pokrmy se nám zdály méně mastné. Jídlo se podává kolem kulatého stolu a každý si nabírá ze středové otočné části. Evropanům v každé lepší restauraci nabídnou přibory, my jsme k jejich překvapení odmítli a celkem úspěšně jsme používali tyčinky. Na začátku se

obvykle servíruje šálek zeleného čaje a naši čínští partneři během celé téměř dvě hodiny trvající večeře obvykle nic jiného nepili. My jsme byli středem pozornosti obsluhujících děvcát, když jsme každý vypil několik dvoudecových skleniček piva. Ochutnali jsme několik druhů čínského piva, které se sice nedá srovnat s naším, ale může sméle konkurovat americkým pivům. Mnohem horší dojem jsme měli po ochutnání poměrně drahého pití překládaného do angličtiny jako rice wine, což je přiboudlinou silně zapáchající tekutina o obsahu 30 až 70 % alkoholu. Většina jídel byla připravována z ryb a mořských produktů (krevety, mušle, krabi, mořští koníci, žraločí ploutve, sépie, chobotnice, medúzy), pravidelně byla podávána i drůbež a vepřové maso. Vše bylo nevykostěné a mastné. Zelenina na všechny způsoby také plavala v oleji. Solidní jistotou je Pekingská kachna s chřupavou medovou krustou, která se jí zabalená v tenké placce spolu se zvláštním druhem cibulovité zeleniny a polítá lahodnou omáčkou. Po počáteční fázi ochutnávání jsem se v rámci zachování rovnováhy trávicího traktu dával přednost méně mastným jídlům jako byly vařené nebo nakládané houby, ryby, chobotnice, krevety, šneci a banánové výhonky. Jednou jsem si vyhlédl asi 15 cm dlouhé suché zelené tyčinky, které jsem považoval za nějakou zeleninu a vzhledem k jejich velice dietní chuti jsem je s chutí konzumoval. To upoutalo pozornost hostitelů a po optání jak mi chutnají mne vysvětlili, že je to místní pochoutka a to sušený úhoří potěr. Poněkud překvapený jsem také byl, když jsem v misce s polévkou (nepodává se před hlavním jídlem, ale v jeho průběhu) pod vrstvou výborných nudlí objevil celou slepičí hlavu včetně zobáku, hřebínku a očí. Naopak zcela běžně chutnala polévka obsahující jako zásadní ingredienci vlašťovčí hnízda. Myslím si, že na základě zkušeností mohu hodnotit pouze slavnostní čínskou kuchyni, hostitelé nás nikdy nevzali do příliš lidově vypadajících restaurací. Potvrdilo se, co nám náš průvodce řekl hned na začátku. Totiž, že v Číně se jí vše co má čtyři nohy kromě stolu a vše co létá kromě letadla.

Jak plyne z předchozích řádků, většinu času jsme strávili ve městech Changzhou a Taizhou. Kromě toho jsme navštívili Šanghai a Peking. Během pobytu v oblasti Šanghaje jsme část víkendu strávili v národním parku Yandang³. Je to park v severovýchodní části provincie Zheijang o rozloze zhruba 450 km² táhnoucí se od pobřeží do hloubky několika desítek km. My jsme navštívili centrální část s vodopádem Big Dragon Fall. Celkově park připomíná Yosemite National Park, s tím rozdílem, že se zřejmě není třeba bát medvědů. V oblasti je několik malých buddhistických chrámů zakomponovaných v úzkých údolích nebo jeskynních útvech. Na rozdíl od amerických parků se lze autem dostat pouze na záchytná parkoviště a dál se musí pěšky.

V Pekingu jsme si samozřejmě nemohli nechat ujít Císařský palác, tzv. Zakázané město⁴. Je v současné době, zřejmě v souvislosti s blížící se olympiádou, téměř celé opravováno. Přístupu z náměstí Tchienanmen vévodí několikametrový portrét předsedy Maa, po projití dvěma nádvořími se dostanete ke skutečnému vchodu do císařské-

ho paláce. Na jeho návštěvu doporučuji vyhradit alespoň půlden, my jsme to štěstí neměli a museli jsme se spokojit s kratší dobou. Chtěli jsme totiž alespoň krátce navštívit také Velkou čínskou zeď⁵. Nejbližší místo je asi 85 km od Pekingu a dostupné po něčem co bychom nazvali rychlostní komunikací, na dálnici má příliš velké stoupání. Zeď vypadá opravdu majestátně, v horském terénu se vine jako had přes jednotlivé vrcholky. V námi navštíveném místě je odhadem až osm metrů vysoká a přes pět metrů široká, každých sto metrů je zeď přerušována strážními věžemi. Údaje o celkové délce kolísají mezi 4 až 6,7 tisíci kilometry, jen několik částí je ale zrekonstruováno a udržováno. Pokud vám zdraví neslouží, nebo nevíte co s penězi, můžete se nechat vyvést na hřbetě dvouhrbého velblouda.

Co dodat závěrem? Snad jen to, že návštěva Číny je v každém případě nepřenositelnou zkušeností a vzhledem k bezkonkurenčnímu tempu růstu tamní ekonomiky bude v budoucnosti jistě dopřána většímu množství Čechů.

LITERATURA

1. Rádl S.: Chem. Listy 98, 1073 (2004).
2. <http://www.sipi.com.cn/gjjzx/english>
3. <http://www.shanghai.ws/TIClook10877.html>
4. <http://www.beijingtrip.com/attractions/forbidden/>
5. http://www.travelchinaguide.com/china_great_wall/

Aprílový klub

Mít tak moře pí-vody...

S takzvanou pí-vodou, jejíž vlastnosti si nezdají s vlastnostmi živé vody z pohádek Boženy Němcové, jsme měli již příležitost se na stránkách Chemických listů setkat (Štěpánek, P.: Chem. Listy 98, 450 (2004)).

Nedá mi, abych se se čtenáři Chemických listů nepodělil o další zajímavá vědecká zjištění, dosud ve standardních chemických textech chybějící, která o tomto úžasném druhu vody publikoval Jaromír Rendl na stránkách Týdeňníku Klatovska (roč. 15, č. 10 z 9. března 2005, str. 6).

Co to tedy vlastně pí-voda je? Autor nám podává jasnou definici (doslova a do písmene – včetně grafiky chemických vzorců – cituji): „Pí-voda je voda derivovaná 2 a 3 mocným chloridem železa $Fe_2Fe_3Cl_5$ a tato pí-voda se v těle vyskytuje např. v buněčné membráně.“

A jaké má pí-voda vlastnosti oproti vodě normální? Inu: „Většina vody na Zemi je ionizovaná, ale voda, která tvoří součást živých organismů rostlin a živočichů, je neionizovaná. Také pí-voda je neionizovaná a tím se velmi podobá tekutině v živých organismech. Živočich i rostlina vstřebávají ionizovanou vodu, kterou pomocí buněčné membrány mění na vodu „biologickou“. Pí-voda je vlastně voda biologická (fyziologický roztok).“ Zdá se, že buněčná membrána má mnohem zázračnější vlastnosti, než dosud biochemikové předpokládali. Nejen, že „chemickou“ vodu změni na „biologickou“, ale ještě umí transmutovat ve výše uvedeném „chloridu železa $Fe_2Fe_3Cl_5$ “ železo na sodík, aby mohl vzniknout fyziologický roztok, jež jak známo je 0,9% roztokem chloridu sodného.

Diskutovaný článek o pí-vodě nás ale zavede i na pole úpravy vody. Tvrzení: „Například přechlorování pitné vody podporuje tvorbu biologických konglomerátů (soli, sraženiny a kameny).“, by mohlo být vzrušující inspirací pro Dr. Frankensteina, který by při svém nadání dokázal pomocí chloru vytvořit nejen biologické konglomeráty, ale i celé organismy.

Článek není inspirativní jen pro chemika, ale i pro evolučního biologa, jehož zaujme konstatování, že: „Voda v organismech všech rostlin a živočichů na Zemi obsahuje malé množství chloridů železa Cl_5 , z čehož vyplývá, že předci rostlin i živočichů žili v minulosti v moři.“ Charles Darwin by se jistě zaradoval.

Na závěr se mi do mysli vkrádá podezření, zda autor při sepisování článku nepožil omylem místo sklenky propagované pí-vody pořádný tuplák pí-va...

Karel Nesměrák

Ach ti astronomové ...

... Další zvláštností oběžné dráhy Pluta je také její šikmost. Je o 17 stupňů odkloněna od roviny, na které mají oběžnou dráhu ostatní planety. Dle poznatků uváděných pozemními observatořemi je povrch Pluta pokryt zmrzlým metanem a dalšími prvky jako jsou H_2O , N_2 , CH_4 , CO kdežto na Titanu, největším měsíci Saturnu, jsou s největší pravděpodobností moře tekutého metanu, ethanu nebo hydrokarbonu (možná i organický materiál).
staženo z webu: www.planety.cz

PaRa

Ze zkouškových písemek

pK_a je hodnota jako pH, jež je vynásobená nějakou konstantou. K_a je hrozně malé číslo.

FrHa

Proti tomu, co dokáže zajíc, je transmutace prvků žabařina!

...(vědci) zjistili, že se zajíc trávením podobá přežvýkavcům. Nejprve ve velkém střevě natráví potravu směsí se střevní mikroflórou. Ta rozloží celulózu na bílkoviny, minerály a vitaminy. Lidové Noviny sobota 16.4.2005, příloha Věda, úryvek z pořadu ČR Meteor, za úpravy textu je odpovědná redakce Lidových Novin.

E.T.

Ještě k uhlovodíkům

Paní doktorka Olga Krumlovská ve své knížce „Místa, která léčí“ vydané nakladatelstvím Troja v roce 1997 barvitě popisuje, jak křišťál vysílá i přijímá energii,

kteřá dokáže neutralizovat patogenní zóny a podobně. To by nic nebylo, píše však dále: „... I když má diamant přesnou krystalickou strukturu, dá se zařadit mezi uhlovodíky (tedy organické látky) ...“. A to je již skutečný objev.

*krab***Zprávy****Věda v ulicích Prahy**

V rámci Evropské fóra vědy a techniky se uskutečnil v Praze ve dnech 17. – 18. 6. 2005 projekt „Věda v ulicích“. Tento projekt měl přiblížit nejširší veřejnosti zajímavosti z vědy a techniky v podobě neobyčejných exponátů, experimentů a populárně naučných akcí. Na Náměstí míru se představily i VŠCHT v Praze a Česká společnost chemická spolu s Českou společností průmyslové chemie. VŠCHT Praha proměřovala zájemcům UV filtr v jejich brýlích. Odborný program stánku ČSCH a ČSPCH zajišťovali studenti Katedry analytické chemie z Univerzity Palackého v Olomouci. Malým i velkým návštěvníkům předváděli jednoduché chemické pokusy, tenkovrstvou chromatografii nebo jim nechali přivonět k výtahům z kořenů.

V Praze se chemie takto představila poprvé, podob-

ná akce byla k vidění na 56. Sjezdu chemických společností v Ostravě. A primát drží Olomouc, kde se již několik let pořádá tradiční akce „Chemický jarmark“. Organizátory jsou právě zaměstnanci Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého a tento projekt si klade za cíl informovat o významu výzkumu v přírodovědných oborech a zároveň dětem, mládeži a laické veřejnosti nabídnout další možnosti vyplnění volného času.

mab

foto: Petra Karnetová

Zákony, které ovlivní život chemiků

209 /2005 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška Ministerstva zemědělství č. 474/2000 Sb., o stanovení požadavků na hnojiva, ve znění vyhlášky č. 401/2004 Sb.

192 /2005 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška Českého úřadu bezpečnosti práce č. 48/1982 Sb., kterou se stanoví základní požadavky k zajištění bezpečnosti práce a technických zařízení, ve znění pozdějších předpisů

169 /2005 Sb. Zákon, kterým se mění zákon č. 65/1965 Sb., zákoník práce, ve znění pozdějších předpisů, zákon č. 88/1968 Sb., o prodloužení mateřské dovolené, o dávkách v mateřství a o přidavcích na děti z nemocenského pojištění, ve znění pozdějších

předpisů, a zákon č. 361/2003 Sb., o služebním poměru příslušníků bezpečnostních sborů, ve znění pozdějších předpisů

168 /2005 Sb. Zákon, kterým se mění zákon č. 117/1995 Sb., o státní sociální podpoře, ve znění pozdějších předpisů, a některé další zákony

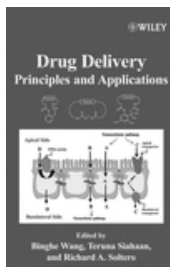
152 /2005 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 304/2004 Sb., kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných a pomocných látek při výrobě potravin

151 /2005 Sb. Vyhláška, kterou se stanoví vzory formulářů pro hlášení osob pěstujících mák setý nebo konopí a způsob vyplňování a nakládání s uvedenými formuláři

148 /2005 Sb. Nařízení vlády o stanovení podmínek pro poskytování dotace na nepotravinářské užití semene řepky olejné pro výrobu methylesteru řepkového oleje
 126 /2005 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 26/2001 Sb., o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky, o náležitostech žádosti o neuvedení ingredience na obalu kosmetického prostředku a o požadavcích na vzdělání a praxi fyzické osoby odpovědné za výrobu kosmetického prostředku (vyhláška o kosmetických prostředcích), ve znění pozdějších předpisů
 125 /2005 Sb. Zákon, kterým se mění zákon č. 120/2002 Sb., o podmínkách uvádění biocidních přípravků a účinných látek na trh a o změně některých souvisejících zákonů, ve znění zákona č. 186/2004 Sb., a některé další zákony
 117 /2005 Sb. Nařízení vlády o některých opatřeních zabezpečujících ochranu ozonové vrstvy
 109 /2005 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 221/2004 Sb., kterou se stanoví seznamy nebezpečných chemických látek a nebezpečných chemických přípravků, jejichž uvádění na trh je zakázáno nebo jejichž uvádění na trh, do oběhu nebo používání je omezeno
 106 /2005 Sb. Úplné znění zákona č. 185/2001 Sb., o odpadech a o změně některých dalších zákonů, jak vyplývá z pozdějších změn
 81 /2005 Sb. Zákon, kterým se mění zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon)
 78 /2005 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 77/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mraže-

né krémy a jedlé tuky a oleje, ve znění vyhlášky č. 124/2004 Sb.
 75 /2005 Sb. Nařízení vlády o stanovení rozsahu přímé vyučovací, přímé výchovné, přímé speciálně pedagogické a přímé pedagogicko-psychologické činnosti pedagogických pracovníků
 68 /2005 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 158/2004 Sb., kterou se stanoví maximálně přípustné množství reziduí jednotlivých druhů pesticidů v potravinách a potravinových surovinách
 66 /2005 Sb. Nařízení vlády o minimálním množství biopaliv nebo jiných paliv z obnovitelných zdrojů v sortimentu motorových benzinů a motorové nafty na trhu České republiky
 43 /2005 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 76/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony
 42 /2005 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška Ministerstva životního prostředí č. 553/2002 Sb., kterou se stanoví hodnoty zvláštních imisních limitů znečišťujících látek, ústřední regulační řád a způsob jeho provozování včetně seznamu stacionárních zdrojů podléhajících regulaci, zásady pro vypracování a provozování krajských a místních regulačních řádů a způsob a rozsah zpřístupňování informací o úrovni znečištění ovzduší veřejnosti
 41 /2005 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška Ministerstva životního prostředí č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady
 12 /2005 Sb. Vyhláška o podmínkách uznání rovnocennosti a nostrifikace vysvědčení vydaných zahraničními školami
 10 /2005 Sb. Vyhláška o vyšším odborném vzdělávání

Recenze



Binghe Wang, Teruna J. Siahaan, Richard A. Soltero
Drug Delivery: Principles and Applications,
 vydal John Wiley v květnu 2005.
 ISBN: 0-471-47489-4, 464 stran, € 83,30.

Autoři, BINGHE WANG, profesor na Department of Chemistry, Georgia State University. TERUNA SIAHAAN, profesor na Pharmaceutical Chemistry Department, University of Kansas a RICHARD A. SOLTERO, prezident společnosti PharmaDirections, Inc. napsali a sestavili příručku, která je nepostradatelnou pomocnicí pro všechny, kteří pracují na vývoji léků. Kniha zavádí čtenáře přímo do problematiky principů a nejmodernějšího použití cílené aplikace léčivých látek.

Současný prudký rozvoj oblastí, jako jsou kombinato- rická chemie, proteomika a genomika způsobil revoluční posun v možnostech výzkumného pracovníka nalézt a syntetizovat nové farmakologicky aktivní sloučeniny. Stále však zůstává po tomto úspěšném kroku problém s tím, jak dopravit léčivo na příslušné místo v organismu a tento problém souvisí i se značným procentem selhání klinických testů.

Tím, že spojuje do jednoho celku příspěvky vůdčích osobností, je tato příručka schopna pokrýt široké pole své-

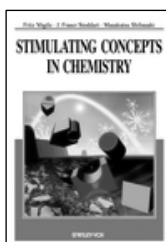
ho záběru systematickým, avšak vyčerpávajícím způsobem. Začíná podrobným vysvětlením klíčových základních faktů jako jsou procesy na fysochemické a biologické bariéře; metabolické cesty transportu léčivých látek; metabolismus; formulace léčiv; otázky farmakokinetiky a farmakodynamiky a mnoho dalšího.

Zbylá část knihy je zasvěcena systematickému probírání tématu, zahrnující přehledné aspekty, praktické příklady, ale i rozsáhlý přehled odkazů na témata jako jsou (ponecháme je v angličtině): Receptor-mediated drug delivery; Prodrug delivery approaches; Oral protein and peptide drug delivery; Gene therapy and gene delivery; Ultrasound-mediated drug delivery; Polycationic peptides and proteins in drug delivery; Pulmonary drug delivery; Antibody-directed drug delivery; Efflux transporters in drug excretion; Intellectual property issues in drug delivery.

Provedení a sazba knihy jsou přehledné a homogenní, jak má být. Moje výtky směřuje k „malíčnosti“. Technická redakce nepřiměla autory, aby použili stereochemickou notaci tak, jak ji v současnosti definuje IUPAC. Tato drobná nectnost je však vlastní mnoha knihám, ba i učebnicím, které vznikly v USA.

Suma sumárum knihu chválím a doporučuji všem chemikům v oblasti farmaceutické, lékařské, ale i klinické chemie a příbuzných oborů.

Pavel Drašar



Fritz Vögtle, J. Fraser Stoddart, Masakatsu Shibasaki (ed.)

Stimulating Concepts in Chemistry, vydal Wiley-VCH v listopadu 2000. ISBN: 3-527-29978-5, 413 stran, € 67,50.

Autoři, které není třeba představovat, sestavili dílo, které je navýsost stimulující a navíc, které představuje nedocenitelný zdroj inspirace pro celou chemickou komunitu, ale i pro odborníky z široké oblasti vzdělávání. Je to kniha, která vede k přemýšlení, ale i kniha, která přináší konkrétní nápady.

Svěží ideje byly vždy potřebným podhoubím pro pokrok v chemických vědách. Bez jejich přísunu od „badatelů“ s neohrazenou kreativitou by se vývoj v oblasti zastavil. Co však představují tyto nové ideje? Odpovědí na tento dotaz je knížka „Stimulating Concepts in Chemistry“. V souboru 24 článků nám skupina prominentních chemiků nechává nahlédnout „pod pokličku“ svých nápadů.

Čtenář se seznámí se samoskladbou, nanochemií a molekulárními dráty a stroji. Dobrodružství poznaného a poznatelného je rozvíjeno i na rozhraní chemie a věd o živé přírodě a materiálech. Vidíme na něm enzymům podobná zařízení a chemické senzory; ale i velké biomolekuly. Vynikající soubor „esejí“ je počtením jak pro toho, kdo hledá myšlenky a fakta, ale i pro toho, kdo hledá krásu řemesla a neohrazené tvořivé práce. Kniha bude jistě užitečná jak pro holobradé studenty, tak pro vědce s vousy až po pás, ale i prostě jako velmi zajímavé čtení pro nejednu zvědavou hospodyňku.

Pavel Drašar

Robert W. Rosner:

Chemie v Rakousku 1740–1914

Příspěvky k dějinám výuky, výzkumu, výroby,

vydavatel W. Kerber a W. Reiter, nakladatelství Böhlau Wien - Köln - Weimar.

Kniha o osmi kapitolách obsahuje 350 stran a 57 vyobrazení. Obsah knihy začíná průvodním slovem a úvodem. Zvláštní dík patří sponzorům, s jejichž pomocí byla v roce 2004 kniha vydána: rektoru vídeňské univerzity, prof. Dr. Georgu Wincklerovi a Dr. Alfredu Baderovi z rakouské ústřední knihovny fyziky.

Autor knihy Robert Rosner, nar. 1924 ve Vídni, v roce 1939 emigroval do Anglie. Po válce vystudoval chemii na vídeňské univerzitě. V průmyslu působil od roku 1956 až do 1990. Další studium zaměřil na historii vědy a politiku vědy. V roce 1999 přednášel v Brně, pobožce ČSCH na téma: Chemie, výuka a věda v Rakousku a Česku v době J. Loschmidta.

Publikace s uvedenou tematikou přehledně objasňuje rostoucí zájem veřejnosti o poznání historického vývoje chemie v Rakousku od dob Marie Terezie až do konce dunajské monarchie. Výuka chemie se stala důležitým vědeckým odvětvím na rakouských vysokých školách. Nejde jen

o dějiny chemické výuky a výzkumu na vysokých školách, ale ukazuje se i na zvláště úzké propojení s chemickým průmyslem.

Některé kapitoly knihy zahrnují i nemalý podíl početné české a moravské složky obyvatelstva na rozvoji chemické výuky, vědy a výroby v dobách monarchie. Početná německá menšina, která byla v zemích Čech a Moravy od jisté doby usazena, se zdárně vyvíjela hospodářsky, poněvadž byla v mnoha ohledech přednostně podporována vídeňskou vládou. V Čechách a na Moravě vzniklo německého odborné a vysoké školství. V Praze byla založena německá univerzita i německá technika a v Brně německá technika. Nejdůležitější soustředění vědy a výuky začalo ve Vídni, Praze a Banské Štiavnici.

Prvá kapitola popisuje začátek moderní chemie v Rakousku a je rozdělena do osmi částí. Jedna z částí je zaměřena na výuku chemie na vídeňské a pražské univerzitě. Výuka byla rovněž na hornické akademii v Banské Štiavnici. Zvláštní stať je věnována Ignáci Bornovi, který se zasloužil v roce 1784 o vznik „Královské učené společnosti nauk“. Druhá kapitola se týká začátků chemického průmyslu v 18. století. Třetí kapitola je zaměřena na vývoj chemie za doby císaře Františka I. Jedna část se týká polytechnického institutu v Praze a Štýrském Hradci. Také svou část má Josef Redtenbacher a jeho škola organické chemie v Praze. Další část zaujímá učení a bádání v Čechách před rokem 1848. Čtvrtá kapitola je o rakouském chemickém průmyslu. Pátá kapitola sleduje chemii v Rakousku v době revoluce a neoabsolutismu 1848 až 1867, zde je uváděn náš rodák, ale vídeňský profesor Josef Loschmidt. Dále je zde uveden i liberecký rodák Heinrich Hlasiwetz. Šestá kapitola zaznamenává začátky moderního chemického průmyslu v letech 1848 až 1867. Sedmá kapitola v rozsahu 74 stran zachycuje chemii za poslední období monarchie v letech 1867–1914. Zde je stať o chemii na Karlově univerzitě v Praze, druhé rakouské univerzitě, zatím co chemie ve Štýrském Hradci byla pod vlivem Pebala a pražského rodáka Z. Skraupa. Na univerzitě v Innsbrucku působil H. Hlasiwetz. V desáté stati je chemie na německé technice v Brně. Osmá kapitola se týká chemického průmyslu v posledních desetiletích monarchie 1887–1914. První stať pojednává o politickém a hospodářském stavu císařství. Druhá stať se zabývá chemickým průmyslem v době rychlé industrializace. V roce 1876 sídlilo vedení na německé technice v Praze. Třetí stať se nazývá Chemický velkopřmysl. Zde se uvádějí první rakouské továrny u nás a vznik tzv. „Ústeckého spolku“. Až pátá stať obsahuje obor mýdlo, svíčky a tukový průmysl v Ústí nad Labem a v Olomouci. Sedmá část je zaměřena na počátek elektrochemického průmyslu. Na přelomu století má rostoucí význam tzv. ústecký zvonový způsob elektrochemické výroby louhu sodného, což vedlo k částečnému přemístění chemického průmyslu z Čech do Alpských zemí.

Kniha je ukončena seznamem literatury, obrázků osob, věcí a chemických provozů.

Díky rakouskému autorovi se nám do rukou dostává přehledné historické dílo.

Adolf. G. Pokorný

Velký lékařský slovník, (Aktualizované vydání výkladového slovníku lékařských termínů)
5. vyd., Maxdorf 2005, Praha, B5, váz., 1002 str., 1495 Kč.

Slovník je určen – na rozdíl od Praktického slovníku medicíny ze stejného nakladatelství – zejména odborné veřejnosti, a to jak lékařům, tak pracovníkům v oborech, které s medicínou přímo či nepřímo souvisejí.

Výkladová hesla, jejichž počet je 36 000, představují průřez jednotlivými lékařskými obory, a to teoretickými (anatomie, biochemie, molekulární biologie), preklinickými (patologie, patofyziologie, farmakologie) i klinickými. Zastoupení klinických oborů není zcela rovnoměrné – počet hesel z vnitřního lékařství, neurologie či psychiatrie mírně převažuje nad hesly z chirurgických oborů. Jsou však dobře zastoupeny i takové obory, jako ORL, oftalmologie, sexuologie či stomatologie. Větší počet hesel je věnován dědičným chorobám včetně několika set vzácných nemocí a syndromů, metabolické vady jsou popisovány v biochemickém kontextu.

Jedním z nešvarů moderní medicíny je rostoucí „oblíba“ zkratk. Je proto cenné, že Velký lékařský slovník obsahuje výklad několik tisíc českých i anglických zkratk, včetně oborově odlišného významu. Slovník obsahuje etymologické

poznámky, i když ne důsledně u všech hesel. Jejich předností je zdůraznění kontextu, a to jak jazykového, tak věcného. Zajímavé je někdy srovnání latinských a řeckých ekvivalentů, dnes již si většina lékařů neuvědomí, že např. angina pectoris je doslovným překladem řeckého termínu stenokardie.

Zajímavou skupinou hesel jsou životopisné medailonky u eponym. Ne všechna eponyma jsou takto doplněna (jejich počet je přibližně 2000), ale přesto díky Velkému lékařskému slovníku vystoupí mnoho jmen používaných v medicíně z anonymity. Pro mnohé čtenáře bude možná překvapením, kolik z významných objevitelů – zejména v 19. století a na začátku století dvacátého – studovalo nebo působil v Praze – za všechny snad uveďme dva průkopníky studia endokrinologie nadledvin, Arthura Biedla (Laurenceův-Moonův-Bardetův-Biedlův syndrom) nebo Hanse Selyeho (objev stresu).

Velký lékařský slovník jistě neobsahuje všechna hesla, která současná medicína používá, obsahuje však jejich rozhodující část. Slovník je významným zdrojem poznání současné medicíny a její terminologie a zejména pochopení souvislostí mezi jednotlivými obory.

Luboslav Stárka

Osobní zprávy

Vzpomínka na RNDr. Věru Volkeovou, CSc. (1925–2005)

Když se dítě narodí, je všude radost. Když někdo odejde z tohoto světa, je to vždycky smutné. Jsou to ale přitom dvě nedílné součásti života, který leží mezi tím a všichni dobře víme, že ani jednu z těchto dvou událostí nelze přeskočit či vymazat. S tím začátkem a koncem života toho sami moc udělat nemůžeme, s tím samotným životem však ano.

Obsah našeho života, tedy vydařená díla i slepé uličky, všechna setkání, vzájemné obdarování a každá – i očím neviditelná – obětavost, laskavost i odpuštění má svoji velkou a jedinečnou hodnotu, která se neprojeví třeba hned, ale jindy, jinde. Rád bych zde zavzpomínal na paní doktorku Věru Volkeovou, která svůj dlouhý život naplnila skutečně kvalitním obsahem a která nás 9. května opustila.

Znal jsem ji od roku 1978 a až do jejího odchodu do penze jsem byl s ní v jedné laboratoři, v jedné pracovní skupině – napřed ve Vlašské, pak ještě krátkou dobu v nové budově v Kobyliších. Vždycky jsem u ní obdivoval jednak její laskavou a současně přísně logickou věcnost – její mnohé výroky byly tak stručné a trefné, že by se daly tesat do kamene, jednak její paměť a současně její zvláštní, až neuvěřitelnou intuici. Stávalo se například, že jsme se snažili vysvětlit nějaký právě pozorovaný jev a diskutovali jsme o něm. Paní doktorka seděla u svého stolu a zdálo se, že nás neposlouchá. Najednou zvedla hlavu a připomněla nějakou zdánlivou banálnost z nějakého starého měření – a světe, div se, bylo to ono. Moc ráda experimentovala. O své intuici zřejmě věděla, protože byla pověstná svojí

láskou k různým elektrochemickým přístrojům a metodám, současně však svojí nechutí číst návody k použití, zvláště ty pětisetstránkové a delší. V ovládání experimentálních zařízení se vždy velmi rychle orientovala a uměla je využívat. Tyto vlastnosti jistě napomáhaly tomu, že publikovala řadu prací – jak původních experimentálních studií, tak i příspěvků do teoretického základu elektrochemie. Stála na začátku padesátých let u zrodu našeho (tehdy ještě Polarografického) ústavu, byla jeho dlouholetou významnou vědeckou pracovnící a podstatně přispěla k rozvoji polarografie a organické elektrochemie.

Ale život není jenom elektrochemie. I když jsme my, mladší, měli možnost vidět paní doktorku převážně jenom v zaměstnání, bylo zřejmé, že má velký cit pro povinnost i v osobním, tedy rodinném životě. Vychovala dceru, byla babičkou dvěma vnučkám, udržovala kontakty se svými příbuznými, spolu se svým manželem nesla po řadu let všechny starosti se svépomocnou výstavbou jejich domku. Bylo skutečně úctyhodné, když v období, kdy se mohla naplno věnovat vědecké práci, si nechala snížit úvazek na minimum, aby mohla trvale pečovat o svoji – tou dobou nemocnou – matku. Zde bych rád připomněl, že s podobnou obětavostí jí pak její manžel, pan docent Volke, pomáhal překonávat zdravotní těžkosti v posledním desetiletí.

Pro paní doktorku byl příznačný i vztah k historii, ke svým předkům a ke svému rodnému Bechyňsku. Vždy se tam ráda vracela a moc hezky o něm mluvila.

Jak jsem zmínil na začátku, ten život, jehož obsah může každý z nás až do posledního okamžiku ovlivňovat, paní doktorka Volkeová naplnila, jak nejlépe dovedla. Všichni na ni budeme s úctou a vděčností vzpomínat.

Jiří Ludvík

Výročí a jubilea

Životní jubilea členů společnosti ve 4.čtvrtletí 2005**80 let**

Ing. Bohumír Linhart (11.10.), dříve VÚPCH VCHZ Pardubice-Semtín, nyní v důchodu Pardubice.

RNDr. Leopold Zemene (11.10.), dříve Technické muzeum Brno, nyní v důchodu Brno.

Ing. Miroslav Janík, CSc. (30.11.), dříve VÚ pro koksochemii, nyní v důchodu Valašské Meziříčí.

Prof. RNDr. Oldřich Fischer, DrSc. (5.12.), dříve PřF MU Brno, nyní v důchodu Brno.

Prof. Ing. Jan Škoda, DrSc. (10.12.), ÚNMZ Praha.

Doc. Dr. Ing. František Vlášil, CSc. (13.12.), dříve VŠCHT Praha, nyní v důchodu Praha.

75 let

Ing. Jaroslav Sluka (3.10.), dříve VÚFB Praha, nyní v důchodu Praha.

Prof. Ing. Jiří Šesták, DrSc. (4.10.), dříve ČVUT FS Praha, nyní v důchodu Praha.

RNDr. Haniel Dubský, CSc. (24.11.), dříve Soudní lékařství Brno, nyní v důchodu Brno.

Prof. Ing. Jaroslav Jarušek, CSc. (29.11.), Univerzita Pardubice.

Ing. Miroslav Kyrš, DrSc. (1.12.), dříve CHEMREX Praha, nyní v důchodu.

Prof. MUDr. Eman Zelníček, CSc. (14.12.), dříve LF MU Brno.

Ing. Ladislav Kúdela, CSc. (23.12.), dříve ÚMCH AV ČR Praha, nyní v důchodu Praha.

Ing. Zeno Šimůnek, CSc. (26.12.), dříve VÚPP Praha, nyní v důchodu Praha.

70 let

Ing. Rostislav Ott, CSc. (3.9.), dříve České závody gumárenské a plastikářské Zlín, nyní v důchodu Zlín.

Ing. Aleš Cee, CSc. (22.9.), dříve VÚOS Pardubice, nyní v důchodu Hradec Králové.

RNDr. Bohuslav Poljak, CSc. (1.10), dříve VZU NH Ostrava, nyní v důchodu Ostrava.

Doc. Ing. Jiří Vondrák, DrSc. (30.11.), ÚAnCH AV ČR Řež u Prahy.

Mgr. Jaroslav Šarhan, CSc. (18.10.), dříve VÚ pozemních staveb Praha, nyní v důchodu Praha.

Ing. Jaroslav Kahovec, CSc. (19.10.), ÚMCH AV ČR Praha.

Ing. Karel Janeš, CSc. (18.11.), JKC, s.r.o.Praha, nyní v důchodu Praha.

Ing. Helena Rybínová, CSc. (24.11.), ČSVTS SZT Praha.

Dipl.tech. Jiří Kroupa (30.11.), dříve Spolchemie Ústí nad Labem, nyní v důchodu Ústí nad Labem.

Ing. Rostislav Pašek, CSc. (6.12.), dříve VVŠ pozemního vojska Vyškov, nyní v důchodu Brno.

Ing. Dušan Thomes (17.12.), SVÚ dříve Český Brod, nyní v důchodu Český Brod..

RNDr. Ivana Velická, CSc. (23.12.), dříve FÚ AV ČR Praha, nyní v důchodu Praha.

65 let

Ing. Jiří Mareček (24.10.), OÚ ref.životního prostředí Ústí nad Labem.

Prof. RNDr. Richard Pastorek, CSc. (11.11.), PřF UP Olomouc.

Doc. Ing. Jiří Čmolík, CSc. (21.11.), dříve Setuza, a.s. Ústí nad Labem, nyní v důchodu Ústí nad Labem.

Prof. Ing. Michal Ilavský, DrSc. (21.11.), MMF UK Praha.

Ing. Stanislav Prošek (11.12.), dříve KHS Praha, nyní v důchodu Praha.

60 let

Doc. Ing. Bořivoj Fiala, CSc. (2.9.), Marbo, Valašské Meziříčí.

Mgr. Jiří Rychtera, PhD. (13.9.), Pedagogická fakulta, Univerzita Hradec Králové.

Ing. Milena Hauerová (19.9.), Fakultní nemocnice Plzeň.

Doc. Ing. Karel Kolář, CSc. (23.9.), Pedagogická fakulta, Univerzita Hradec Králové.

Ing. Magda Nová (25.10), SODB Pardubice.

Ing. Karel Kaufman (4.11.), Rakovník

Kučera Jaroslav (18.11), Praha.

Ing. Eva Morávková (18.12.), ÚKZUZ Brno.

Ing. Marta Novrocíková (28.12.), DEZA, a.s. Valašské Meziříčí.

Doc. RNDr. Vlastimil Fiedler, CSc. (31.12.), FJFI Praha.

Blahopřejeme

Zemřelí členové Společnosti

RNDr. Věra Volkeová, CSc., v důchodu Praha, dříve ÚFCH J. H. AV ČR Praha, zemřela 9.5.2005 ve věku nedožitých 80 let.

RNDr. Miloslav Kopanica, v důchodu Praha, dříve ÚFCH J. H. AV ČR Praha, zemřel 31.5.2005 ve věku nedožitých 76 let.

Čest jejich památce



Česká společnost chemická
 Sekretariát a redakce Chemických listů
 Novotného lávka 5
 116 68 Praha 1
 tel./fax: 222 220 184, redakce tel. 222 221 778
 e-mail: mblahova@csvts.cz
<http://www.csch.cz>

Proč se stát členem České společnosti chemické

Zapojení v České společnosti chemické, členu Asociace českých chemických společností, přináší individuálním chemikům kromě vlastního členství v největší a nejstarší profesní organizaci chemiků:

- celosvětově uznávanou příslušnost k jedné z nejstarších profesních organizací v chemii na světě,
- možnost zapojení se do práce a komunikace v jedné z místních či odborných poboček ČSCH,
- kontakty, informace, služby, možnosti, uplatnění...
- podstatné slevy u vložného na sjezdech a konferencích, jejichž oficiálním pořadatelem je ČSCH,
- možnost dostávat 4× ročně zdarma tzv. „bulletinové číslo“ Chemických listů,
- možnost objednání předplatného Chemických listů s významnými slevami,
- možnost objednání „osobního balíku předplatného“ Chemických listů a časopisů konsorcia EUChemSoc,
- členské informace o nových knihách, produktech a službách i o připravovaných odborných akcích na celém světě, informace o dění v evropských chemických strukturách
- možnost zažádání o evropskou nostrifikaci chemického vzdělání a odborné praxe spojenou s udělením titulu Eurchem, platného v celé EC,
- přístup ke službám a slevám poskytovaným členskými organizacemi EC3 a FECS pro členy národních organizací,
- možnost přidruženého členství v IUPAC,
- možnost získání a doporučení členské přihlášky do významných zahraničních chemických společností (RSC, ACS, GDCh, GÖCh, SFC aj.),
- možnost získání příležitostných slev obchodních firem spolupracujících s ČSCH,
- možnost uplatnit informace z vlastní pracovní činnosti (výsledky, novinky, inzerce, tisková oznámení aj.),
- možnost zveřejnění vlastního oznámení v rubrice Bulletinu Chemických listů „Práci hledají“,
- vedle individuálního členství je možné kolektivní členství firem,
- a řadu dalších služeb.

Jak se stát členem ČSCH

Členská přihláška je k dispozici na internetových stránkách ČSCH nebo na sekretariátu ČSCH. Členství je přístupné pro všechny zájemce o chemii a přijetí nového člena doporučí dva členové ČSCH (doporučení je možné nahradit odborných životopisem), členství nabývá platnosti po schválení hlavním výborem ČSCH.

Výši členských příspěvků a možné slevy schvaluje na návrh předsednictva hlavní výbor ČSCH.

OBSAH

ÚVODNÍK	453
REFERÁTY	
Oxidativní stres: lokalizace TVORBY aktivních forem kyslíku a jejich degradace v rostlinném organismu	455
J. Piterková, K. Tománková, L. Luhová, M. Petřivalský a P. Peč	
Listeria monocytogenes – Nebezpečný patogen a jeho detekce v potravinách	467
M. Blažková, L. Karamonová, L. Fukal a P. Rauch	
Červeně a modře zbarvené brambory – významný zdroj antioxidantů v lidské výživě	474
J. Lachman, K. Hamouz a M. Orsák	
Minimalizácia obsahu akrylamidu v potravinách	483
Z. Ciesarová	
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY	
Obsah resveratrolu v zelenině a ovoci	492
I. Kolouchová, K. Melzoch, J. Šmidrkal a V. Filip	
Aplikace spektrofotometrického stanovení esterů v rostlinném materiálu	496
J. Víteček, V. Adam, J. Petřek, P. Babula, P. Novotná, R. Kizek a L. Havel	
Modifikace standardizované evropské metody postupné extrakce půdy pro hodnocení podílů vybraných prvků přijatelných rostlinou	502
J. Száková, P. Tlustoš, D. Pavlíková a J. Balík	
HPLC stanovení robenidinu v krmivech	509
M. Douša	
Vliv přidávání sloučenin selenu do půdy na obsah sloučenin selenu v hlízách brambor	515
J. Hlušek, M. Jůzl, J. Čepl a T. Lošák	
Hodnotenie metódy stanovenia selénu v zelenine atomovou absorpčnou spektrofotometriou s elektrotermickou atomizáciou a s generovaním hydridov	518
O. Hegedüs, A. Hegedüsová, J. Gašparík a A. Ivičičová	
Závislost výnosu a kvality cibule kuchyňské na hnojení sloučeninami síry	525
Tomáš Lošák a Ladislav Dučay	
DISKUSE	528

CONTENTS

EDITORIAL	453
REVIEW ARTICLES	
Oxidative Stress: Localisation of Reactive Oxygen Species Formation and Degradation within Plant Tissue	455
J. Piterková, K. Tománková, L. Luhová, M. Petřivalský, and P. Peč	
Listeria monocytogenes – Dangerous Pathogen and its Detection in Foods	467
M. Blažková, L. Karamonová, L. Fukal, and P. Rauch	
Red and Purple Coloured Potatoes – A Significant Antioxidant Source in Human Nutrition	474
J. Lachman, K. Hamouz, and M. Orsák	
Minimization of Acrylamide Content in Foods	483
Z. Ciesarová	
LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS	
The Content of Resveratrol in Vegetables and Fruits	492
I. Kolouchová, K. Melzoch, J. Šmidrkal, and V. Filip	
Application of Fluorimetric Determination of Esterases in Plant Material	496
J. Víteček, V. Adam, J. Petřek, P. Babula, P. Novotná, R. Kizek, and L. Havel	
Modification of Standardized European Soil Sequential Extraction Method for Evaluation of Plant-available Portions of Selected Elements	502
J. Száková, P. Tlustoš, D. Pavlíková, and J. Balík	
HPLC Determination of Robenidine in Feedingstuff	509
M. Douša	
The Effect of Selenium Supplementation on its Concentration in Potato Tubers	515
J. Hlušek, M. Jůzl, J. Čepl, and T. Lošák	
Evaluation of the ETA-AAS and HG-AAS Methods of Selenium Determination in Vegetables	518
O. Hegedüs, A. Hegedüsová, J. Gašparík, and A. Ivičičová	
The Effect of Sulphur Fertilisation on Yields and Quality of Onion	525
Tomáš Lošák and Ladislav Dučay	
DISCUSSION	528

BULLETIN ČESKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ

BULLETIN OF THE CZECH CHEMICAL SOCIETIES

Chemický „Eurobakalář“	531	The Chemistry „Eurobachelor“	531
Ze života chemických společností	545	From the Chemical Societies	545
Evropský koutek	549	European Column	549
Odborná setkání	550	Meetings and Conferences	550
Akce v ČR a v zahraničí	552	Meetings Calendar	552
Střípky a klípky o světových chemících	552	Biographical Sketches of World Chemists	552
Bulletin představuje	554	Bulletin presents	554
Členská oznámení a služby	556	Member Services and Announcements	556
Chemik na cestách	557	Chemist on a Business Trip	557
Aprílový klub	560	Club of Jokes	560
Zprávy	561	News	561
Zákony, které ovlivní život chemiků	561	Laws that could Influence Life of Chemists	561
Recenze	562	Book Reviews	562
Osobní zprávy	564	Personal News	564
Výročí a jubilea	565	Anniversaries and Jubilees	565

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 99 (2005), čís./no. 7 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 129, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 115 • ISSN 0009-2770, ISSN 1213-7103 (e-verze) • evidenční číslo MK ČR E 321 • Vydává Česká společnost chemická jako časopis Asociace českých chemických společností ve spolupráci s VŠCHT v Praze, s ČSPCH a ÚOCHB AV ČR za finanční podpory Nadace Český literární fond a kolektivních členů ČSCH • IČO 444715 • Published by the Czech Chemical Society • VEDOUCÍ REDAKTOR/EDITOR-IN-CHIEF: B. Kratochvíl • REDAKTOŘI/ EDITORS: J. Barek, Z. Bělohav, P. Drašar, J. Hetflejš, P. Holý, J. Horák, P. Chuchvalec, J. Podešva, P. Rauch, J. Volke; Bulletin: M. Bláhová, I. Valterová; Webové stránky: R. Liboska, P. Zámstný • ZAHRANIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTOŘI/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA), V. Větvicka (USA), L. Opletal (Hradec Králové) • KONZULTANT/CONSULTANT: J. Kahovec • VÝKONNÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: R. Řápková • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: E. Borsig, M. Černá, L. Červený, E. Dibuszová, J. Hanika, Z. Havlas, I. Kadlecová, J. Káš, J. Koubek, T. Míšek, J. Pacák, V. Pačes, O. Paleta, V. Růžička, I. Stibor, V. Šimánek, R. Zahradník • ADRESA PRO ZASÍLÁNÍ PŘÍSPĚVKŮ/MANUSCRIPTS IN CZECH, SLOVAK OR ENGLISH CAN BE SENT TO: Chemické listy, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel./phone +420 221 082 370, fax +420 222 220 184, e-mail: chem.listy@csvts.cz • INFORMACE O PŘEDPLATNÉM, OBJEDNÁVKY, PRODEJ JEDNOTLIVÝCH ČÍSEL A INZERCE/INFORMATION ADS: Sekretariát ČSCH, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel/fax +420 222 220 184, e-mail: mblahova@csvts.cz, simanek@csvts.cz • PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL: <http://chemicke-listy.vscht.cz> • TISK: Česká Tiskárny, s.r.o., Ráby 14, 533 52 Staré Hradiště; SAZBA, ZLOM: ČSCH, Chemické listy • Copyright © 2004 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 147 Kč, roční plně předplatné 2005 (12 čísel) 1512 Kč, individuální členské předplatné pro členy ČSCH 756 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 80 EUR (doručování via SCHS), individuální členské předplatné pro členy ČSCH 60 EUR (doručování via SCHS), 225 EUR (individuální doručování) • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG; Annual subscription for 2004 (12 issues) 225 EUR • This journal has been registered with the Copyright Clearance Center, 2322 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923, USA, where the consent and conditions can be obtained for copying the articles for personal or internal use • Pokyny pro autory najdete v čísle 1/2002 a na internetu, zkratky časopisů v čísle 10/97 na str. 911 • Chemické listy obsahující Bulletin jsou zasílány zdarma všem individuálním a kolektivním členům ČSCH a ČSPCH v ČR i zahraničí, do všech relevantních knihoven v ČR a významným představitelům české chemie a chemického průmyslu; v rámci dohod o spolupráci i členům dalších odborných společností • Dáno do tisku 30.6.2005.