

Chemické

listy

5



(Ne)známý vitamin E

Zázračná kurkuma

Normy pro laboratoře

Limonen a jeho deriváty

Bakteriální nanocelulosa v medicíně

Nová řešení v oblasti charakterizace pevných materiálů společnosti Anton Paar

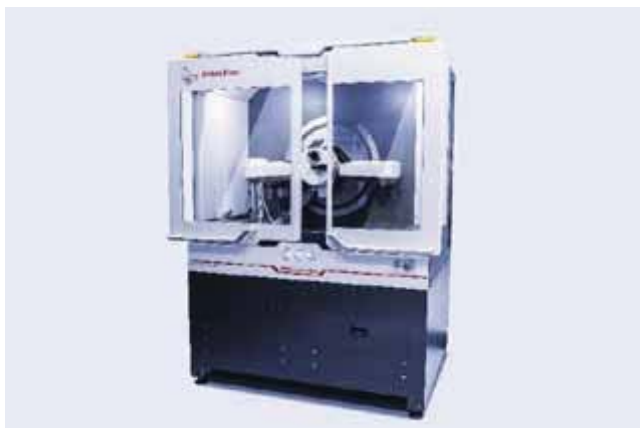
Adsorbce – Nova 600/800

Nová řada adsorpčních přístrojů Nova 600/800 pro stanovení velikosti plochy povrchu a distribuce velikosti pórů pevných materiálů, navržena s ohledem na provozní jednoduchost a rychlost v kombinaci s maximální přesností v celém procesu analýzy. Tento přístroj se čtyřmi odplyňovacími stanicemi a až čtyřmi analytickými stanicemi umožňuje provést čtyři pětibodové analýzy BET za 20 minut s reprodukovatelností 2 %.



Nova 600/800

Rentgenová difrakce – XRDynamic 500

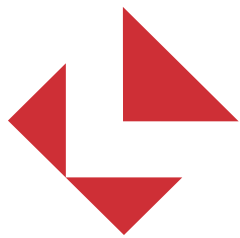


XRDynamic 500

XRDynamic 500 – nové univerzální, přesné a flexibilní řešení rentgenové difrakce společnosti Anton Paar, spolehlivé systémy jsou navrženy pro intuitivní použití a nabízejí vysokou míru automatizace. Práškový difraktometr XRDynamic 500 je vybaven pokročilou optikou, goniometrem nové generace a nejmodernějšími detektory se širokou škálou aplikací, které pokrývá rozsáhlé portfolio ambientních a neambientních platforem pro vzorky.

V Anton Paar vyvíjíme nemyslitelné, abychom vytvořili výjimečné věci. Již celé století umožňujeme vědcům po celém světě najít odpovědi na největší výzvy lidstva a podporujeme netradiční nápady lidí, kteří mění svět.





LABOREXPO

1.-2. 6. 2022

PVA EXPO PRAHA - LETŇANY

La

Lanthan

B

Bór

O

Kyslík

Re

Rhenium

X

LABOREXPO

P

Fosfor

O

Kyslík

VELETRH
LABORATORNÍ
TECHNIKY JIŽ
PO DESÁTÉ!

KOMPLETNÍ VYBAVENÍ PRO LABORATOŘE

WORKSHOPY A PRODUKTOVÉ PREZENTACE

ANALÝZY VZORKŮ A MOBILNÍ LABORATOŘE

MOŽNOST NAVŠTÍVIT VELETRH VĚDY

ORGANIZÁTOR
CHEMAGAZÍN

MÍSTO
KONÁNÍ

PVA
EXPO PRAHA





NEW THINKING FOR THE LAB OF THE FUTURE.

AI už budoucnost přinese cokoli, nejprve se o tom dozvíte na veletrhu analytica 2B, předním světovém veletrhu laboratorní techniky, analýzy a konference biotechnologie, který ukáže cestu k síti laboratoří. Vystavovatelé a odborníci z celého světa budou prezentovat produktové inovace a diskutovat o konkrétních řešeních a digitálních vizích budoucnosti. Zjistěte si vstupenku nyní na: analytica.de/ticket

Kontakt: EXPO-Consult & Service, spol. s r.o., Tel. +420 5 4517 6158, info@expoc.cz



Červen 21–24, 2022 | analytica
Červen 21–23, 2022 | analytica conference

Veletrh analytica 2022 Mnichov: Průvodce inteligentních laboratoří

- Navštivte speciální show o digitální transformaci
- Kolaborativní roboti poskytují podporu při každodenní laboratorní práci
- Odborná fóra představí budoucí technologie pro svět laboratoří
- Vysoká mezinárodní účast vystavovatelů vč. českých firem

Od **21. do 24. června 2022 otevře analytica své brány na mnichovském výstaviště**. Letošní zaměření předního světového veletrhu laboratorních technologií, analytiky a biotechnologie s doprovodnou analytickou konferencí je jednoznačné: digitální transformace laboratorního světa a know-how proti COVID-19.

Chytrá řešení pro digitální transformaci laboratorního světa jsou středem zájmu veletrhu analytica. Elektronické laboratorní notebooky, automatizované vysoce výkonné screeniny a pipetovací roboty: digitální transformace laboratorního světa již dávno začala. „V laboratorním průmyslu existuje jasná touha po větší digitální podpoře a automatizaci,“ říká Armin Wittmann, projektový manažer veletrhu. „Analytica činí budoucí technologie hmatatelnými, aby urychlil přechod na Laboratoř 4.0.“

Kolaborativní robotická ramena jsou nezbytnou součástí chytré laboratoře prezentující se na veletrhu analytica. Podporují pracovníky laboratoře jednoduchými činnostmi, jako je vkládání uzávěrů do centrifugy nebo uzavírání nádob na vzorky. „Cílem je v budoucnu provádět více experimentů nebo analýz ve vyšší kvalitě s menším počtem zdrojů,“ vysvětluje Felix Lenk, který je spolu s několika vystavovateli analytiky zodpovědný za digitální laboratoř na veletrhu.

Další výzva pro Laboratoř 4.0: Všechna zařízení spolu musí komunikovat a vyměňovat si data. Navíc jsou napojeny na mobilní koncová zařízení uživatelů a někdy i na externí IT oddělení. Tuto vizi lze realizovat pouze v případě, že veškerý software a laboratorní technologie lze propojit do sítě a všechna zařízení mají standardizované rozhraní.

Téměř tisícovka vystavovatelů z 50 zemí se těší na Vaši návštěvu!



Květen – měsíc lásky a vědy

Tak tu máme zase květen. Při vyslovení názvu tohoto měsíce si snad každý vzpomene na úryvek z Máchova Máje: „Byl pozdní večer – první máj – večerní máj – byl lásky čas. Hrdliččin zval ku lásce hlas, kde borový zaváňel háj“. Poetika skrytá v těchto pár verších je zřejmá a nezapomínáme je ani po mnoha letech, co jsme opustili školní lavice. Snad i proto je květen tím pravým měsícem lásky a milostného opojení a okouzlení. A snad ani není divu. Po mnoha měsících zimy přichází konečně měsíc, kdy nad přírodou začíná získávat vládu Slunce a jeho blahodárné účinky. Po vyložení studeném únoru, který nezřídka získá i primát nejchladnějšího měsíce v roce, březnu, kdy mnohdy jaro začíná jen vskutku formálně, a dubnu, kdy nám známá pranostika sděluje, že zůstat v blízkosti kamen není tak špatný nápad, konečně přichází měsíc, kdy se můžeme zahřát a odhodit mnohé izolační vrstvy, které nás do té doby tížily. A i když občas přijde nějaký ten májový deštík, netrvá dlouho a jeho teplota je příjemná. Mnohé květiny začínají rašit a kvést a nálada se všeobecně obrací k lepšímu. I přes jisté s lepší náladou spojené milostné opojení může být překvapující, pokud připočteme klasických 40 týdnů, že jak u nás, tak celosvětově, únor bývá spíše měsícem s velmi nízkou porodností¹, a květen tak bývá příznivým měsícem pro početí dětí pouze v Uruguayi, Iránu a Ázerbájdžánu¹. V Evropě je takovým měsícem, možná trochu nečekaně, říjen, díky čemuž je porodnost tradičně nejvyšší o prázdninách¹. Nabízí se tak otázka, proč je zrovna květen v našich končinách považován za měsíc lásky? Nicméně, i když je tedy zjevně květen měsícem lásky nazýván v našich končinách neoprávněně, na rozdíl od Uruguaye, Iránu a Ázerbájdžánu, určitě zcela bezvýznamným měsícem květen také není a důležitých událostí pro náš obor nám přinesl řadu. Například, s velmi vysokou pravděpodobností byl v květnu roku 1833 počat významný ruský chemik a tvůrce periodického zákona – Dmitrij Ivanovič Mendělejev (narodil se 8. 2. 1834). A možná je to šťastnou souhrou náhod, že v květnu, konkrétně 8. 5. 1855, se narodil velký přítel Dmitrije Ivanoviče Mendělejeva a významný český vědec, prof. Bohuslav Brauner. Je dobře známo, že věda té doby nepřijala Mendělejevův systém jednoznačně, nicméně Bohuslav Brauner byl již jako student tímto systémem fascinován, zejména ve chvíli, kdy Lecoq de Boisbaudran objevil nový prvek dnes známý jako gallium, jehož existenci a vlastnosti, jak známo, Mendělejev s překvapivou přesností díky svému systému předpověděl². To Braunera utvrdilo v tom, že Mendělejevův systém je správný a stal se jeho nadšeným zastáncem a podporovatelem a v podstatě v průběhu celé své následující kariéry se staral o propagaci a zviditelňování tohoto systému a rovněž významně přispěl k jeho doplňování, rozvoji a úpravě do podoby, ve které periodickou tabulku prvků známe dnes. Zasloužil se o správné zařazení lanthanoidů do periodického systému, což ve své době nebyla

snadná záležitost, protože tehdy nebyl znám jejich přesný počet a jejich chemické vlastnosti byly velmi podobné. S lanthanoidy souvisí i Braunerův (málem) největší objev, jelikož byl prvním, kdo v letech 1881–1882 s využitím spektroskopie zjistil, že didym, který byl v té době považován za samostatný prvek, je ve skutečnosti směsí dvou prvků, které dnes známe pod názvy praseodym a neodým³. Jistá váhavost v publikování a izolaci nově objevených prvků ale způsobila, že nakonec je prioritou v objevu těchto dvou prvků připsána Karlu von Welsbachovi, který praseodym v roce 1885 izoloval^{4,5}. To, že Braunerovi není připisován objev žádného prvku, ale nijak nesnižuje jeho význam a přínos, který pro rozvoj periodické tabulky prvků učinil. Brauner se svými spolupracovníky totiž stanovil velmi přesně atomové hmotnosti lanthanu, beryllia, ceru, thoria, telluru a cínu a velmi pozitivně byl akceptován jeho návrh využívat jako základ relativních atomových hmotností kyslík namísto původně využívaného vodíku. To platilo až do roku 1961, kdy byla k těmto účelům zvolena 1/12 hmotnosti izotopu uhlíku ¹²C. Značná část jeho zhruba 170 vědeckých publikací byla věnována periodickému systému prvků. Bohuslav Brauner samozřejmě nebyl (a není) jediným významným vědcem se zálibou v chemii, který spatřil světlo světa v květnu. Z mnohých dalších lze jmenovat např. Justuse von Liebiga (12. 5. 1803), Eduarda Buchnera (20. 5. 1860), Victora Grignarda (6. 5. 1871) a nebo objevitele hned dvou prvků periodického systému, beryllia a chromu, Louise Nicolase Vauquelina (16. 5. 1763).

Měsíc květen ale nepřinesl světu pouze řadu významných vědců, ale rovněž také několik významných objevů i nových prvků. Jakkoliv je určení měsíce, kdy byl ten který prvek objeven, velmi obtížné, tak květen je spojen s objevem cesia, kryptonu a nobelia. I když zrovna v případě posledně jmenovaného supertěžkého prvku je všechno trochu komplikovanější. Lze říci, že nobelium bylo objeveno hned třikrát a na třech různých místech planety. První „objev“ nobelia je patrně datován do roku 1957, kdy vědci Nobelova institutu bombardovali curium ionty uhlíku ¹³C a popsali objev prvku ²⁵¹102 či ²⁵³102 s poločasem rozpadu cca 10 minut (cit.⁶). Pro prvek navrhl jméno nobelium, dle názvu svého ústavu a rovněž na počest Alfreda Nobela. Experiment se ale o rok později pokusili zopakovat američtí vědci pod vedením Alberta Ghiorsa a Glenna Seaborga z Berkeley. Bohužel se jim ho nepodařilo zopakovat s tím, že neidentifikovali žádný izotop nobelia s poločasem rozpadu delším než 3 minuty, ale pozorovali izotop nový, patrně ²⁵⁴102, s poločasem rozpadu okolo 3 sekund, a právě 5. května 1958 tento svůj objev oznámili světu. Ani toto ale nebyl konec příběhu objevu nobelia. Zhruba ve stejné době, a zřejmě již předtím^{4,6}, se začali nobelium zabývat i sovětsí vědci ze známé laboratoře v Dubně pod vedením Georgije Flerova. Ukázalo se, že i americká studie má nedostatky

v identifikaci nového prvku⁷, byť byl nejspíše opravdu připraven⁶. Řada experimentů z Dubna vyvrcholila v roce 1966 dalším způsobem přípravy nobelia bombardováním uranu neonem. Tato studie nabídla patrně nejvěrohodnější důkaz existence nového prvku a ruští vědci si tak začali nárokovat jeho objev^{6,7}. Tím byla započata dlouhá epocha sporů mezi třemi zmíněnými laboratořemi spojenými s nárokováním prvenství v objevu nobelia, z nějž poměrně brzo ustoupila laboratoř z Nobelova institutu. My se nebudeme pokoušet jednotlivé skupiny rozsoudit, tak učinil IUPAC (konkrétně jeho TGW – Transfermium Working Group), když v roce 1992 bylo rozhodnuto, že nejsilnější důkazy existence nového prvku přinesla skupina z Dubna a objev nobelia byl přiřazen právě jí⁷. Prvku byl ale ponechán název nobelium, na nějž už si vědecká veřejnost zvykla.

Zajímavá je i historie objevu cesia, patrně nereaktivnějšího a zároveň relativně dostupného prvku periodické soustavy prvků. Cesium je kov nazlátlé až zlaté barvy s kovovým leskem a s velmi nízkou teplotou tání 28,4 °C. S ohledem na to se nabízí otázka, proč je jeho jméno spojeno s modrou barvou, neboť pochází z latinského „caesius“, což je výraz pro nebeskou modř. Cesium totiž bylo objeveno spektroskopicky Robertem Bunsenem a Gustavem Kirchhoffem v roce 1860 při analýze minerální vody z Dürheimu⁴, přičemž tato významná událost byla oznámena světu 10. května. Při analýze oba vědci pozorovali linie ve spektru, které evidentně patřily novému prvku, z nich ty nejvýraznější měly modrou barvu. Odtud tedy nový prvek získal své jméno. Následně se jim podařilo izolovat asi 7 g chloridu cesného, z nějž se jim ale nepodařilo izolovat samotný kov. V tom byl úspěšný až o více než 20 let později Carl Theodor Setterberg, který cesium izoloval elektrolyzou kyanidu cesného a následně určil jeho hustotu a bod tání. Musela to být velmi „příjemná“ práce, s ohledem na vysokou reaktivitu tohoto kovu, která je patrná z řady videí dostupných např. na YouTube⁸, kde autoři neváhají obětovat i větší množství tohoto kovu k realizaci explozivních reakcí, a to i přes relativně vysokou cenu okolo 70–80 amerických dolarů za 1 g.

V květnu, konkrétně 30. 5. 1898 odpoledne, došlo dle všeho k objevu dalšího zajímavého prvku – kryptonu⁴. Jeho název pochází z dobře známého řeckého slova „kryptos“, což znamená „skrytý“. Historie jeho objevu naznačuje, že svůj název drží právem. Na počátku byla izolace argonu, kterou provedli William Ramsay a Morris Travers extrakcí ze vzduchu, tedy velmi podobným způsobem jako více než 100 let předtím Henry Cavendish a Joseph Priestley. Ramsay a Travers zařadili tento plyn, společně s rovněž nově objeveným heliem, správně do periodické tabulky prvků a došlo jim, že tato skupina musí obsahovat další prvky, které se jali hledat. Doufali, že tyto nové prvky budou rovněž „skryty“ ve vzduchu jako další z jeho složek, a s využitím nové metody frakční destilace zkapalněného vzduchu se jim na konci května 1898 podařilo izolovat přibližně 25 ml nového plynu⁴. Spektrometricky ihned dokázali, že jde o nový dosud neznámý prvek. Později obdobným způsobem objevili xenon a neon⁴, u nichž rovněž

správně předpokládali, že musí existovat díky prázdným místům v periodické tabulce prvků nad argonem a pod kryptonem.

Nicméně, květen samozřejmě není jen měsícem objevů prvků či narození významných vědců. Například v květnu roku 1852 se svět od sira Edwarda Franklanda dozvěděl o teorii valence. Ale to by bylo také na dlouhé povídání, které by přesáhlo rozsah tohoto úvodníku. Jak už bylo v tomto textu naznačeno, již určení jména objevitele daného prvku nebo jiného objevu může být v řadě případů značně diskutabilní. O to obtížněji lze hovořit o tom, že ten který objev byl učiněn právě v daném měsíci. Vždy šlo o práci zdlouhavou a náročnou, s přesahem do měsíců a let předchozích a mnohdy rovněž i měsíců a roků budoucích. Neberte tak, prosím, text v tomto úvodníku jako důkaz toho, že květen by byl měsícem pro vědu zvláště příhodným. Spíše jsem se snažil naznačit, že i když se zdá, že v květnu nebudou podmínky, vzhledem ke všeobecnému milostnému opojení, pro velké objevy ideální, není tomu tak a květen je příhodný pro práci v laboratoři minimálně stejně jako měsíce ostatní. A i kdyby některý večer nebyl věnován výzkumné práci, může být okamžikem vzniku nebo zrození nového významného vědce, což také není k zahoezení. Nezbyvá tak než popřát krásný květen a příjemné počtení v novém květnovém čísle Chemických listů. Ať se daří práce na Vašich nových objevech, na jejichž oznámení se těšíme v některém z čísel dalších. Chemické listy pro to poskytují prostor již od roku 1876 (cit.⁹).

Petr Šmejkal

LITERATURA

1. Chibana N.: *Do Humans Have Mating Seasons? This Heat Map Reveals the Surprising Link between Birthdays and Seasons*. <https://visme.co/blog/most-common-birthday/>, staženo 14. 4. 2022.
2. Novák M.: Chem. Listy 113, 191 (2019).
3. Fontani M., Mariagrazia C., Mary Virginia O.: *The Lost Elements: The Periodic Table's Shadow Side*. Oxford University Press, New York 2015.
4. RSC: *Periodic Table*. <https://www.rsc.org/periodic-table/history>, staženo 14. 4. 2022.
5. Holý P.: Chem. Listy 116, 242 (2022).
6. Emsley J.: *Nature's Building Blocks: An A-Z Guide to the Elements*. 2. vyd., Oxford University Press, New York 2011.
7. Barber R. C., Greenwood N. N., Hryniewicz A. Z., Jeannin Y. P., Lefort M., Sakai M., Úlehla I. M., Wapstra A. H., Wilkinson D. H.: *Pure Appl. Chem.* 65, 1757 (1993).
8. Uživatel YouTube ChemicalForce: *I Got a Case Full of Cesium Ampules and BROKE Them*. <https://www.youtube.com/watch?v=gqcu3yEkQ7g>, staženo 14. 4. 2022.
9. Kratochvíl B., Drašar P.: Chem. Listy 115, 498 (2021).

- Šmejkal P.: Chem. Listy 116, 285–286 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220285>

VITAMIN E – ZNÁMÝ ČI NEZNÁMÝ?

JAKUB FIŠNAR a ZUZANA RÉBLOVÁ

Ústav analýzy potravin a výživy, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 3, 166 28 Praha 6
zuzana.reblova@vscht.cz

Došlo 15.3.21, přepracováno 8.12.21, přijato 10.12.21.

Klíčová slova: vitamin E, tokoferoly, tokotrienoly, tokomonoenoly, antioxidanty, biologická aktivita

• <https://doi.org/10.54779/chl20220287>

Obsah

1. Úvod
2. Sloučeniny vykazující aktivitu vitaminu E
3. Význam vitaminu E pro člověka
 - 3.1. Antioxidační působení vitaminu E
 - 3.2. Jiné než antioxidační působení vitaminu E
4. Závěr

1. Úvod

Poprvé byl vitamin E popsán v roce 1922 Evansem a Bishopovou jako antisterilní faktor nezbytný pro správné proběhnutí reprodukčního cyklu krys¹. V roce 1931 pak byla popsána antioxidační funkce tokoferolů², která je v současné době (většinou vědecké komunity) považována za hlavní projev biologické aktivity vitaminu E (cit.^{3–5}). Tento vitamin je přitom často označován za nejvýznamnější lipofilní antioxidant, který v membránách buněk a lipoproteinech krevního séra ochraňuje mastné kyseliny před oxidací³. V posledních cca 30 letech se navíc ukázalo, že dostatečný příjem vitaminu E (spolu s dalšími antioxidanty) může hrát důležitou roli v prevenci vzniku a rozvoje kardiovaskulárních chorob a některých dalších onemocnění^{1,6}. Tato skutečnost podnítila širší výzkum tokoferolů^{6–21}, v rámci něhož byly objeveny zejména některé další sloučeniny s aktivitou vitaminu E (cit.^{11–21}), a také některé doposud nepopsané mechanismy působení tohoto vitaminu *in vivo*^{1,6,7}. Následující text proto shrnuje aktuální pohled na vitamin E, a to především právě na sloučeniny vykazující aktivitu tohoto vitaminu a mechanismy jeho působení *in vivo*.

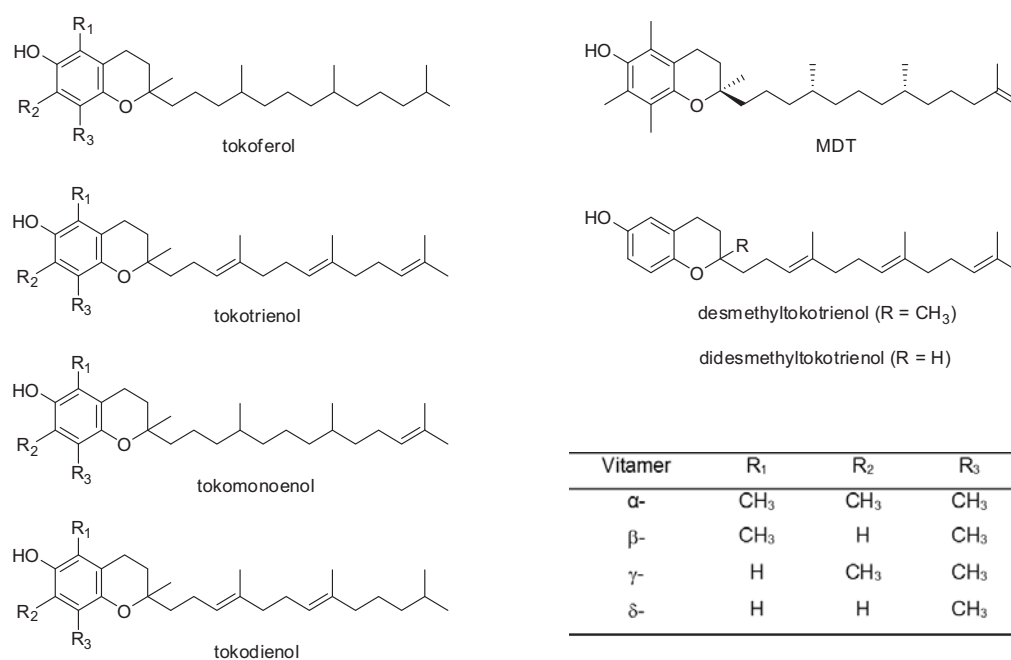
2. Sloučeniny vykazující aktivitu vitaminu E

Podle klasického pojetí je vitamin E tvořen čtyřmi tokoferoly a čtyřmi tokotrienoly, které jsou společně označovány jako tokochromanoly³. Přibližně od konce 20. století jsou však objevovány další strukturně podobné látky, přičemž u některých z nich již byla experimentálně prokázána biologická aktivita vitaminu E (cit.¹⁰). Mezi tyto nové sloučeniny patří např. tokomonoenoly^{11–15}, desmethyl- a didesmethyltokotrienoly^{16,17} a tokodienoly¹⁸ (viz obr. 1).

Z nově objevených sloučenin byla zatím největší pozornost věnována studiu tokomonoenolů, které byly dokonce detekovány v lidské plazmě¹⁰, a které někteří autoři považují za třetí skupinu sloučenin s aktivitou vitaminu E (cit.¹⁴). Z potravinových zdrojů byly přitom tokomonoenoly nalezeny zejména v palmovém^{14,15}, dýňovém¹¹ a slunečnicovém oleji²² a v kiwi¹³. Zvláštním typem α -tokomonoenolu je pak MDT (marine-derived tocopherol), který byl poprvé popsán v jikrách lososa¹⁹ a který pravděpodobně usnadňuje adaptaci mořských ryb na nízkou teplotu²¹.

Jednotlivé tokochromanoly vykazují různou míru biologické aktivity vitaminu E (cit.^{3,23}) (viz tab. I), a to především v závislosti na své chemické struktuře²³:

- a) Důležitou roli hrají methylové skupiny (s kladným indukčním efektem) umístěné v pozici *ortho* k hydroxylové skupině na chromanovém jádře, které usnadňují odštěpení vodíkového atomu z hydroxylové skupiny, stabilizují vzniklý tokoferoxylový radikál a umožňují reakci tohoto radikálu s peroxylovými radikály. α -Tokoferol má přitom methylové skupiny v obou *ortho* polohách k hydroxylové skupině, β -tokoferol a γ -tokoferol pouze v jedné a δ -tokoferol v žádné.
- b) Stabilitu tokoferoxylového radikálu zvyšuje kyslíkový atom heterocyklu umístěný v *para* poloze k hydroxylové skupině. Kyslíkový orbital p obsahující volný elektronový pár je téměř kolmý na rovinu aromatického jádra a překrývá se s poloobsazenými molekulovými orbitály radikálu. Čím je tento překryv orbitalů větší, tím je tokoferoxylový radikál stabilnější prostřednictvím delokalizace elektronů. Míru překryvu orbitalů charakterizuje tzv. dihedralní úhel, jehož hodnoty jsou pro jednotlivé tokoferoly následující: α -tokoferol 21°, β -tokoferol 21,4°, γ -tokoferol 18,9° a δ -tokoferol 20,2°.
- c) Míra lipofility je důležitá pro rozpustnost tokoferolů (a tokotrienolů) *in vivo* v lipidovém prostředí, jako jsou např. buněčné membrány nebo lipoproteinové částice. Lipofilitu tokoferolů (a tokotrienolů) ovlivňují methylové skupiny na chromanovém jádře a postranní řetězec připojený na chromanové jádro v poloze C2. Čím je tokochromanol lipofilnější, tím má větší aktivi-



Obr. 1. Chemická struktura jednotlivých vitamérů vitamínu E a některých příbuzných sloučenin (MDT – marine-derived tocopherol)

Tabulka I

Relativní biologická aktivita různých sloučenin s aktivitou vitamínu E (cit.^{5,10})

Název	Relativní biologická aktivita [%]
α -Tokoferol	100
β -Tokoferol	50
γ -Tokoferol	10
δ -Tokoferol	3
α -Tokotrienol	50
β -Tokotrienol	5
γ -Tokotrienol	neznámá
δ -Tokotrienol	neznámá
MDT ^a	49
α -Tokomonoenol	30

^a Marine-derived tocopherol

tu *in vivo*. α -Tokoferol má přitom tři methylové skupiny a nasycený postranní řetězec a vykazuje tudíž nejvyšší biologickou aktivitu ze všech tokochromanolů.

Relativní biologická aktivita tokochromanolů uvedená v tab. I vychází z pokusů se zvířaty, u kterých vitamin E působí jako antisterilní faktor. V těchto pracích byly například sledovány březí krysy s nedostatkem vitamínu E, které byly krmeny různým množstvím jednotlivých tokochromanolů, přičemž byl sledován vliv těchto látek na

přežití kryších plodů⁵. Ze získaných dat pak byla spočítána relativní biologická aktivita jednotlivých tokochromanolů. Tyto hodnoty však pravděpodobně nelze přímo použít pro člověka^{1,24}, u něhož nebyl pozorován antisterilní efekt tokochromanolů, který byl potvrzen v experimentech s různými zvířaty^{1,25}.

Pro posouzení účinnosti jednotlivých tokochromanolů u člověka je tak pravděpodobně rozhodujícím faktorem následující skutečnost: Tokochromanoly jsou po absorpci ze zažívacího traktu transportovány do jater, kde jsou pomocí transportního proteinu pro α -tokoferol (α -TTP) začleňovány do lipoproteinových částic a distribuovány do okolních tkání⁵. Bylo přitom zjištěno, že α -TTP upřednostňuje při vazebných interakcích větší počet methylových skupin, optickou konfiguraci *R*-uhlíku číslo 2 na chromanovém jádře a nasycený postranní řetězec. Experimentálně pak bylo potvrzeno, že α -TTP výrazně preferuje vazbu na α -tokoferol a ze všech jeho možných optických forem nejnadhěji váže *R,R,R*- α -tokoferol, který má díky tomu nejvyšší biologickou aktivitu (viz tab. II). Relativní afinita α -TTP k ostatním tokochromanolům (ve vztahu k *R,R,R*- α -tokoferolu, vůči němuž má afinitu 100 %) je pak následující: *R,R,R*- β -tokoferol 38 %, *R,R,R*- γ -tokoferol 9 %, *R,R,R*- δ -tokoferol 2 % a *R,R,R*- α -tokotrienol 12 % (cit.⁵; měřeno za podmínek soutěže mezi daným tokochromanolem a *R,R,R*- α -tokoferolem během membránového přenosu *in vitro*). α -Tokoferol je tak v těle zadržován, zatímco ostatní formy vitamínu E jsou v játrech přednostně metabolizovány a vylučovány²⁴. V důsledku toho je koncentrace α -tokoferolu v krevní plazmě (průměrně 20 $\mu\text{mol l}^{-1}$) přibližně 10krát větší než koncentrace γ -tokoferolu, a ostatní tokochromanoly se

Tabulka II

Relativní biologická aktivita optických isomerů α -tokoferolu⁵

Název	Relativní biologická aktivita [%]
2R,4'R,8'R- α -tokoferol	100
2R,4'R,8'S- α -tokoferol	90
<i>all-rac</i> - α -tokoferol	74
2R,4'S,8'S- α -tokoferol	73
2S,4'S,8'S- α -tokoferol	60
2R,4'S,8'R- α -tokoferol	57
2S,4'R,8'S- α -tokoferol	37
2S,4'R,8'R- α -tokoferol	31
2S,4'S,8'R- α -tokoferol	21

v plazmě vyskytují jen v zanedbatelném množství^{25–27}.

S ohledem na tuto skutečnost proto novější literatura^{1,5,9} uvádí, že jako vitamin E by měl být u člověka označován pouze α -tokoferol, resp. pouze jeho 2R-optické isomery⁵.

3. Význam vitaminu E pro člověka

Jak již bylo uvedeno, vitamin E byl objeven v roce 1922 jako sloučenina potřebná pro správné proběhnutí reprodukčního cyklu krys²⁸. Tato funkce vitaminu E však nebyla u člověka potvrzena¹, a ačkoliv k dnešnímu datu bylo provedeno obrovské množství studií, které si kladly za cíl objasnit, proč je vitamin E esenciálním mikronutrientem pro člověka, ani téměř 100 let od objevení tohoto vitaminu není známa jeho přesná biologická funkce²⁹. V odborné komunitě přitom převažují dva odlišné názory³⁰. Jedna část odborníků tvrdí, že vitamin E působí převážně (ne-li výhradně) jako antioxidant⁴, zatímco jiní zastávají názor, že vitamin E působí spíše tzv. neantioxidačními mechanismy³¹.

3.1. Antioxidační působení vitaminu E

Vitamin E (α -tokoferol; spolu s dalšími v tuku i ve vodě rozpustnými antioxidanty) poskytuje živým systémům účinnou obranu proti volným radikálům a poškozením, které tyto radikály vyvolávají na buněčné úrovni⁵. Vitamin E se přitom nachází ve všech membránách buněk (tedy jak v buněčné membráně, tak v membránách buněčného jádra, mitochondrií, endoplazmatického retikula a dalších)³. Šest molekul α -tokoferolu je dále součástí každé lipoproteinové LDL (tj. low density lipoprotein) částice, a nachází se také v HDL a VLDL lipoproteinech (tj. v high density a very low density lipoproteinech)^{3,8}.

Vzhledem k jasně potvrzené antioxidační aktivitě vitaminu E v *in vitro* studiích³², jeho umístění v membránách buněk a lipoproteinových částicích, a na základě jeho antioxidační aktivity pozorované v některých

in vivo studiích^{32–35}, je vitamin E považován za nenahraditelný lipofilní antioxidant, který zhasením peroxylových radikálů ochraňuje nenasycené mastné kyseliny v biomembránách a lipoproteinových částicích *in vivo*. Tímto působením udržuje integritu polyenových mastných kyselin (například arachidonové kyseliny) a podporuje tak jejich aktivitu. Bioaktivní lipidy v membránách buněk jsou totiž důležité signální molekuly a jejich ztráta v důsledku oxidace může mít vliv na aktivitu enzymů, buněčné signální dráhy nebo expresi genů, a tím ovlivňovat např. shlukování krevních destiček, zánětlivý stav organismu nebo životní cyklus buněk a další děje⁴.

Význam vitaminu E jako antioxidantu v lidském těle potvrdila v roce 2010 i EFSA (tj. Evropský úřad pro bezpečnost potravin – European Food Safety Authority)³⁶, která povolila uvádět na potravinách zdravotní tvrzení: „Vitamin E přispívá k ochraně buněčných složek před oxidačním poškozením.“ Vitamin E má tedy potenciál pozitivně působit v prevenci vzniku a rozvoje onemocnění, která mohou vznikát v důsledku nadměrného oxidačního stresu (zejména tedy kardiovaskulárních nebo nádorových onemocnění)^{9,37}. Pro lidské zdraví je však významná také antioxidační funkce tokochromanolů uplatňující se v potravinách, kde během jejich skladování a zpracování inhibují vznik zdraví škodlivých látek (zejména některých oxidačních produktů lipidů) a zároveň ochraňují žádoucí složky potravy (např. esenciální mastné kyseliny) před oxidací³⁸.

Antioxidační aktivita tokoferolů i tokotrienolů je dána jejich schopností poskytovat vodíkové atomy volným lipidovým radikálům²³. Zdá se však, že *in vivo* α -tokoferol reaguje pouze s peroxylovými radikály³². Přitom se uvádí, že jedna molekula vitaminu E je schopna ochránit až přibližně 2000 lipidových molekul³⁷. Tato výjimečná schopnost je dána pravděpodobně kombinací tří faktorů:

- vyšší rychlosti reakce mezi vitaminem E a peroxylovými radikály ve srovnání s reakční rychlostí těchto radikálů s nenasycenými mastnými kyselinami³⁴;
- schopností některých antioxidantů (např. vitaminu C) regenerovat radikály vitaminu E do jeho původní formy vykazující antioxidační vlastnosti⁴;
- schopností α -tokoferolu v jednom reakčním cyklu inaktivovat dva peroxylové radikály³.

Výjimečná schopnost α -tokoferolu působit jako antioxidant v biomembránách je pak dána nejen jeho obecnou schopností inaktivovat volné radikály, ale také jeho orientací v membránách. Předpokládá se, že α -tokoferol je v buněčných membránách zanořen do lipidové dvojvrstvy pomocí postranního řetězce, zatímco chromanový cyklus s hydroxylovou skupinou je orientován směrem k povrchu membrány. Hydrofobní interakce a vodíkové vazby mezi chromanovým jádrem, postranním řetězcem a mastnými kyselinami přitom stabilizují membránu a polohu chromanového jádra, které poskytuje vodíkový atom peroxylovým radikálům⁵.

Z α -tokoferolu vzniká v této reakci relativně stabilní α -tokoferoxylový radikál, který může dále reagovat několika způsoby:

- může být oxidován až na α -tokoferylchinon, který je

- pak z těla vylučován žlučí jako glukuronid nebo močí jako α -tokoferonová kyselina²⁷;
- b) může reagovat s dalšími radikály za vzniku neradikálových produktů^{3,23,27};
 - c) může migrovat z lipidové dvojvrstvy k povrchu membrány, kde ho může vitamin C (a jiné hydrofilní redukční sloučeniny) regenerovat zpět na vitamin E (cit.^{4,27,39});
 - d) může se stát potenciálním reiniciátorem lipidové peroxidace v důsledku své relativně dlouhé životnosti^{40,41}.

Jak již bylo zmíněno, antioxidační schopnost tokoferolů byla prokázána v řadě studií^{32–35}. Nejčastěji se přitom uvádí tyto dvě řady tokoferolů podle jejich klesajícího antioxidačního efektu δ - > γ - > β - > α -tokoferol nebo δ - > γ - = β - > α -tokoferol³. Pořadí jednotlivých tokoferolů podle antioxidační aktivity v systémech *in vitro* (a tedy i v potravinách) se tak významně liší od jejich pořadí podle biologické aktivity *in vivo*^{3,23} (viz dříve). Tento nesoulad lze vysvětlit významnou závislostí antioxidační efektivity tokoferolů na experimentálních podmínkách^{3,42} a možnou účastí tokoferoxylových radikálů (zejména α -tokoferoxylového radikálu) ve vedlejších (prooxidačních) reakcích v systémech *in vitro*^{43,44}. Naopak *in vivo* mohou být tokoferoxylové radikály regenerovány některými sloučeninami (vitamin C, ubichinon)⁴⁴. Biologická aktivita *in vivo* je však pravděpodobně nejvýznamněji ovlivněna již zmíněnou rozdílnou afinitou α -TTP k jednotlivým tokoferolům (a tokotrienolům)^{5,44}.

3.2. Jiné než antioxidační působení vitamínu E

Jak již bylo naznačeno, někteří výzkumníci se domnívají, že vitamin E působí *in vivo* převážně jiným než antioxidačním způsobem³¹. Tito autoři přitom tvrdí, že tokochromanoly se v lidském organismu nemohou projevit antioxidačním účinkem, neboť se v něm vyskytují v příliš nízkých koncentracích^{7,31}, a že doposud provedené studie antioxidační funkce vitamínu E *in vivo* jsou nedostatečné^{1,6}.

Ne-antioxidační působení vitamínu E bylo ve většině případů studováno pouze u α -tokoferolu, a to jak v buněčných modelových systémech, tak v některých experimentech se zvířaty^{1,6,45–51}. V rámci těchto pokusů bylo zjištěno, že α -tokoferol se může specificky vázat na některé proteiny, a tím se může zapojovat např. do regulace exprese genů nebo modulovat aktivitu některých enzymů (např. proteinkinasy C, fosfatidylinositol-3-kinasy nebo cyklooxygenasy)^{1,52}. V důsledku toho může vitamin E pravděpodobně ovlivňovat zejména protizánětlivý stav organismu^{1,53}, srážení krevních destiček^{1,54} nebo ukládání lipidů v aortě^{1,55}, což může následně např. snižovat cévní komplikace u diabetiků^{1,56}.

Teorii ne-antioxidačního působení α -tokoferolu podporuje také skutečnost, že kromě vazby α -tokoferolu prostřednictvím jeho hydroxylové skupiny na některé proteiny může *in vivo* docházet také k obalení chromanového jádra α -tokoferolu některými bílkovinami a k esterifikaci α -tokoferolu kyselinou fosforečnou, přičemž všechny tyto modifikace vedou ke ztátě antioxidační aktivity vitamínu E

(cit.^{1,6}).

Vědeckých prací studujících ne-antioxidační potenciál ostatních tokochromanolů je ve srovnání se studii s α -tokoferolem jen relativně málo. Existující práce však ukázaly, že β - (cit.⁵⁷), γ - a δ -tokoferol^{58–62} mohou prostřednictvím specifických vazebných interakcí¹ vykazovat protizánětlivý, antineoplastický a natriuretický účinek. Zejména protizánětlivá aktivita γ -tokoferolu (často vyšší než α -tokoferolu⁶³) byla přitom potvrzena v řadě studií^{1,64,65}. Tokotrienoly pak mají pravděpodobně zejména schopnost snižovat hladinu cholesterolu^{5,66,67}, a to potlačením aktivity 3-hydroxy-3-methylglutaryl-koenzym A-reduktasy, která se účastní syntézy cholesterolu⁵.

4. Závěr

Jak je z tohoto přehledu patrné, ačkoliv vitamin E brzy oslaví své „sté narozeniny“, potenciál jeho výzkumu není ještě zdaleka vyčerpán, a to zejména v oblasti studia tokomonoenolů a dalších „nových“ látek s aktivitou vitamínu E, a dále pak v rámci plného objasnění mechanismů působení vitamínu E *in vivo*.

LITERATURA

1. Azzi A.: Mol. Aspects Med. 61, 92 (2018).
2. Zingg J. M.: Mol. Aspects Med. 28, 400 (2007).
3. Velišek J.: *The Chemistry of Food*. John Wiley & Sons, Hoboken 2014.
4. Traber M., Atkinson J.: Free Radicals Biol. Med. 43, 4 (2007).
5. Eitenmiller R., Lee J.: *Vitamin E: Food Chemistry, Composition, and Analysis*. Marcel Dekker Inc., New York 2004.
6. Galli F., Azzi A., Birringer M., Cook-Mills J. M., Eggersdorfer M., Frank J., Cruciani G., Lorkowski S., Özer N. K.: Free Radicals Biol. Med. 102, 16 (2017).
7. Azzi A., Meydani S. N., Meydani M., Zingg J. M.: Arch. Biochem. Biophys. 595, 100 (2016).
8. Eitenmiller R. R., Landen W. O., v knize: *Vitamin Analysis for the Health and Food Sciences* (Eitenmiller R. R., Landen W. O., Ye L., ed.), kap. 3, str. 119. CRC Press, Boca Raton 2008.
9. Péter S., Friedel A., Roos F. F., Wyss A., Eggersdorfer M., Hoffmann K., Weber P.: Int. J. Vitam. Nutr. Res. 14, 1 (2016).
10. Gotoh N., Watanabe H., Oka T., Mashimo D., Noguchi N., Hata K., Wada S.: Lipids 44, 133 (2009).
11. Butinar B., Bučar-Miklavčič M., Mariani C., Raspor P.: Food Chem. 128, 505 (2011).
12. Kruk J., Pisarski A., Szymańska R.: J. Plant Physiol. 168, 2021 (2011).
13. Fiorentino A., Mastellone C., D'Abrosca B., Pacifico S., Scognamiglio M., Cefarelli G., Caputo R., Monaco P.: Food Chem. 115, 187 (2009).
14. Iriás-Mata A., Stuetz W., Sus N., Hammann S., Gralla K., Cordero-Solano A., Vetter W., Frank J.: J. Agric. Food Chem. 65, 7476 (2017).

15. Ng M. H., Choo Y. M., Ma A. N., Chuah C. H., Hashim M. A.: *Lipids* 39, 1031 (2004).
16. Qureshi A. A., Mo H., Packer L., Peterson D. M.: *J. Agric. Food Chem.* 48, 3130 (2000).
17. Pacifico S., Scognamiglio M., D'Abrosca B., Monaco P., Fiorentino A., v knize: *Handbook of Analysis of Active Compounds in Functional Foods* (Nollet L. M. L., Toldrá F., ed.), kap. 10, str. 165. CRC Press, Boca Raton 2012.
18. Gasparoli A., Mariani C.: *Riv. Ital. Sostanze Grasse* 93, 77 (2016).
19. Yamamoto Y., Maita N., Fujisawa A., Takashima J., Ishii Y., Dunlap W. C.: *J. Nat. Prod.* 62, 1685 (1999).
20. Gotoh N., Mashimo D., Oka T., Sekiguchi K., Tange M., Watanabe H., Noguchi N., Wada S.: *Food Chem.* 129, 279 (2011).
21. Dunlap W. C., Fujisawa A., Yamamoto Y., Moylan T. J., Sidell B. D.: *Comp. Biochem. Physiol., Part B: Biochem. Mol. Biol.* 133, 299 (2002).
22. Hammann S., Englert M., Müller M., Vetter W.: *Anal. Bioanal. Chem.* 407, 9010 (2015).
23. Kamal-Eldin A., Appelqvist L. A.: *Lipids* 31, 671 (1996).
24. Traber M. G.: *J. Lipid Res.* 54, 2295 (2013).
25. Brigelius-Flohe R., Kelly F. J., Salonen J. T., Neuzil J., Zingg J. M., Azzi A.: *Am. J. Clin. Nutr.* 76, 703 (2002).
26. Bruno R. S., v knize: *Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods* (Wildman R. E. C., ed.), kap. 16, str. 309. CRC Press, Boca Raton 2007.
27. Traber M. G.: *Adv. Nutr.* 5, 503 (2014).
28. Evans H. M., Bishop K. S.: *Science* 56, 650 (1922).
29. Brigelius-Flohe R., Galli F.: *Mol. Nutr. Food Res.* 54, 583 (2010).
30. Brigelius-Flohe R., Davies K. J. A.: *Free Radicals Biol. Med.* 43, 2 (2007).
31. Azzi A.: *Free Radicals Biol. Med.* 43, 16 (2007).
32. Niki E.: *Free Radicals Biol. Med.* 66, 3 (2014).
33. Parola M., Leonarduzzi G., Biasi F., Albano E., Biocca M. E., Poli G., Dianzani M. U.: *Hepatology* 16, 1014 (1992).
34. Mastaloudis A., Leonard S. W., Traber M. G.: *Free Radicals Biol. Med.* 31, 911 (2001).
35. Bruno R. S., Ramakrishnan R., Montine T. J., Bray T. M., Traber M. G.: *Am. J. Clin. Nutr.* 81, 95 (2005).
36. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: *EFSA J.* 8, 1816 (2010).
37. Rizvi A., Raza S. T., Ahmed F., Ahmad A., Abbas S., Mahdi F.: *Sultan Qaboos Univ. Med. J.* 14, 157 (2014).
38. Réblová Z., Peprná T.: *Chem. Listy* 107, 271 (2013).
39. Bruno R. S., Leonard S. W., Atkinson J., Montine T. J., Ramakrishnan R., Bray T. M., Traber M. G.: *Free Radicals Biol. Med.* 40, 689 (2006).
40. Bowry V. W., Ingold K. U., Stocker R.: *Biochem. J.* 288, 341 (1992).
41. Bowry V. W., Stocker R.: *J. Am. Chem. Soc.* 115, 6029 (1993).
42. Réblová Z.: *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 108, 858 (2006).
43. Yanishlieva N. V., Kamal-Eldin A., Marinova E. M., Toneva A. G.: *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 104, 262 (2002).
44. Mukai K., Noborio S., Nagaoka S. I.: *Int. J. Chem. Kinet.* 37, 605 (2005).
45. Ambrogini P., Betti M., Galati C., Di Palma M., Lattanzi D., Savelli D., Galli F., Cuppini R., Minelli A.: *Int. J. Mol. Sci.* 17, 2107 (2016).
46. Pédebosq S., Rey C., Petit M., Harpey C., De Giorgi F., Ichas F., Lartigue L.: *PLoS One* 7, e36811 (2012).
47. Yang Y., McClements D. J.: *Food Chem.* 141, 473 (2013).
48. Vieira-Filho L. D., Cabral E. V., Santos F. T., Coimbra T. M., Paixao A. D.: *Pediatr. Nephrol.* 26, 2019 (2011).
49. Ozer N. K., Sirikci O., Taha S., San T., Moser U., Azzi A.: *Free Radicals Biol. Med.* 24, 226 (1998).
50. Han S. N., Pang E., Zingg J. M., Meydani S. N., Meydani M., Azzi A.: *Arch. Biochem. Biophys.* 495, 49 (2010).
51. Zingg J. M., Han S. N., Pang E., Meydani M., Meydani S. N., Azzi A.: *Arch. Biochem. Biophys.* 538, 111 (2013).
52. Zingg J. M.: *Annu. Rev. Nutr.* 35, 135 (2015).
53. Freedman J. E., Farhat J. H., Loscalzo J., Keaney Jr. J. F.: *Circulation* 94, 2434 (1996).
54. Cook-Mills J. M.: *J. Clin. Cell. Immunol.* 4, 1000137 (2013).
55. Ozer N. K., Azzi A.: *Toxicology* 148, 179 (2000).
56. Bursell S. E., King G. L.: *Diabetes Res. Clin. Pract.* 45, 169 (1999).
57. Kamei Y., Otsuka Y., Abe K.: *Cytotechnology* 59, 183 (2009).
58. Smolarek A. K. a 11 spoluautorů: *Cancer Prev. Res.* 5, 1310 (2012).
59. Guan F., Li G., Liu A. B., Lee M. J., Yang Z., Chen Y. K., Lin Y., Shih W., Yang C. S.: *Cancer Prev. Res.* 5, 644 (2012).
60. Li G. X., Lee M. J., Liu A. B., Yang Z., Lin Y., Shih W. J., Yang C. S.: *Cancer Prev. Res.* 4, 404 (2011).
61. Xu M. a 18 spoluautorů: *J. Biol. Chem.* 287, 39349 (2012).
62. Shibata A., Nakagawa K., Tsuduki T., Miyazawa T.: *J. Nutr. Biochem.* 26, 345 (2015).
63. Jiang Q., Ames B. N.: *FASEB J.* 17, 816 (2003).
64. Elisia I., Kitts D. D.: *Am. J. Physiol.* 305, G940 (2013).
65. Wagner J. G., Birmingham N. P., Jackson-Humbles D., Jiang Q., Harkema J. R., Peden D. B.: *Free Radicals Biol. Med.* 68, 101 (2014).
66. Qureshi A. A. a 10 spoluautorů: *Am. J. Clin. Nutr.* 53, 10215 (1991).
67. Qureshi A. A., Bradlow B. A., Brace L., Manganello J., Peterson D. M., Pearce B. C., Wright J. J., Gapor A., Elson C. E.: *Lipids* 30, 1171 (1995).

J. Fišnar and Z. Réblová (*Department of Food Analysis and Nutrition, University of Chemistry and Technology Prague*): **Vitamin E – Known or Unknown?**

Vitamin E was described in 1922 and its basic mechanism of action was elucidated in 1931. However, some new compounds with vitamin E activity have been discovered, and some unknown mechanisms of action of this vitamin *in vivo* have been described in a research conducted in the last 20 years. Therefore, the present review provides a comprehensive, current view of vitamin E.

Keywords: vitamin E, tocopherols, tocotrienols, tocomonoenols, antioxidants, biological activity

- Fišnar J., Réblová Z.: Chem. Listy 116, 287–292 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220287>

KURKUMA, ŽLUTÝ ZÁZRAK Z VÝCHODU

MICHAL JURÁŠEK a PAVEL DRAŠAR

Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-
technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6
drasarp@vscht.cz

Došlo 29.10.21, přijato 1.12.21.

Klíčová slova: kurkuma, kurkumovník, kurkuminoidy,
kurkumin, E100

• <https://doi.org/10.54779/chl20220293>

Kurkuma, v češtině též indický šafrán, žlutý kořen, žlutý zázvor, indický lék, indický ženšen či žlutý zázrak (angl. turmeric, castor saffron, saffron root) je prášek vyráběný vařením (v alkalickém prostředí), usušením a pomletím oddenku kurkumovníku (*Curcuma longa* L., syn. *Curcuma domestica* Valetton, *Stissera curcuma* Giseke, *Amomum curcuma* Jacq. V literatuře se vyskytuje i název *Kua domestica* Medik. (nom. illeg.), který však vznikl jako tisková chyba. S českým jménem podle Presla (1846) kurkuma dlouhá, či podle Marečka (1994) kurkumovník domácí, je rostlina patřící do čeledi Zingiberaceae Lindl. – zázvorovité. Popsána a charakterizována byla celá řada kurkum¹. Pěstována již nejméně 4000 let je proslulou drogou (léčivou drogou), ale i typickým kořením orientální kuchyně a materiálem pro barvířství. Zejména v Indii je používána buď samostatně nebo jako součást koření typu masála či karí. Karí je původně indické jídlo, dušenina, podle kterého dostalo koření, jež se v něm typicky používá, i svůj anglický název „curry powder“. Samostatně se kurkuma používá i k barvení látek, dřeva a potravin na žluto (hořčice, cereálie, „vaječné“ výrobky, brambůrky, sýr, zmrzliny, máslo, margaríny apod.)², proslulá je žlutá karí rýže nebo žlutoučké brambory obarvené tím, že se kurkuma přidá do vody při jejich vaření. V Indii je známý i čaj s přídavkem těchto koření.

Žlutohnědý prášek má charakteristickou vůni a lehce palčivou, dřevnatou či nahořklou chuť. Barva drogy se skladováním nemění, kdežto vůně může dlouhým skladováním ztratit na intenzitě. Už ve Wikipedii se dozvíme, že má vynikající protizánětlivé účinky³ a je prokazatelným antioxidantem⁴. Významně podporuje mozkové kognitivní funkce, zejména u starších lidí⁵. Ve světové literatuře existuje řada seriózních popisů kurkumy⁶ i kurkuminu^{7,8} a dalších komponent rostliny *Curcuma longa* L. (cit.⁹). Česká literatura se, bohužel, většinou omezuje na popis faktů a někdy i pověr, bez literárních citací. Obecně lze kurkumu a kurkumin označit za vysoce aktivní biologický materiál s potenciálem léčit či předcházet různým onemoc-



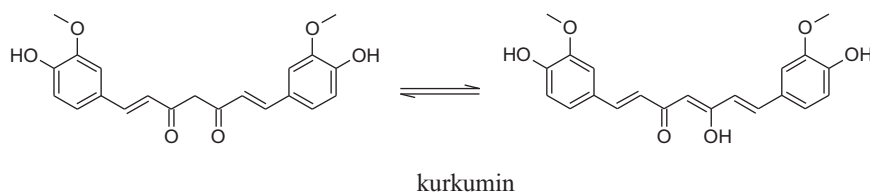
Obr. 1. „Cyperus“ ze španělského překladu Dioskoridovy knihy¹²

něním i v rámci moderní medicíny¹⁰. Použití nalezne kurkuma i proti hypoxii způsobené vysokými nadmořskými výškami¹¹.

Kurkuma pochází z Orientu. Většinou byla vyráběna v Indii (zejména v jihoindickém městě Erode, známém též jako „Žluté město“). Do Evropy se kurkuma dostala od arabských kupců a v období 50–75 n. l. ji popsal Pedanius Dioscorides ve svém díle *Περὶ ὕλης ἰατρικῆς (O léčivech)*¹² pod názvem Cyperus. Název kurkuma (curcuma) pochází z arabského kurkum či hebrejského karkom, znamenající žlutý. Kurkuma i kurkumin mají potravinářský status GRAS (generally recognized as safe)^{13,14}; nejsou však schváleny pro barvení majonézy a salátových dressingů. Příjem kurkuminu z normální diety by podle reevaluace EFSA z roku 2010 měl činit méně než 3 mg/kg/den (cit.¹⁵).

Anglický název turmeric pochází ze sanskrtu a opět ve významu žlutý¹⁶. Pro svoji velmi intenzivně žlutou barvu bývá kurkuma míchána s metanilovou žlutí (Acid Yellow 36, 3-(4-anilinofenylazo)benzensulfonan sodný), která je toxická. V lepším případě je kurkuma ředěna cihlovým práškem či křídou¹⁷.

Z kurkumy bylo izolováno více než 100 komponent. Hlavní složkou kořene je těkavý olej, obsahující voňavé turmerony a barviva zvaná kurkuminoidy (zejména kurkumin (2,86–5,69 %), demethoxykurkumin (1,47 %), bisdemethoxykurkumin (1,36 %), 5'-methoxykurkumin a dihydrokurkumin)¹⁸, které byly studované stran antioxidantních

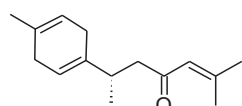


a protirakovinných účinků. Bylo popsáno, že za antioxidační vlastnosti může být zodpovědný i z drogy izolovaný protein TAP (Turmeric Antioxidant Protein)¹⁹.

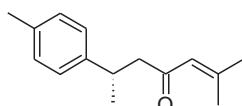
Kurkumin (E100, CI Natural Yellow 3, kurkumová žluť, kurkum, diferuoylmethan) je nejdůležitější složkou kurkumy a hlavním článkem její biologické aktivity. Značnou nevýhodou kurkuminu je jeho praktická nerozpustnost ve vodě, která činí $3 \cdot 10^{-5}$ $\mu\text{mol ml}^{-1}$ (cit.²⁰); $\log P$ 2,92 (ACD/LogP v. 14,50). Rozpustnost ve vodě lze až 12× zvýšit za tepla, aniž přitom dojde ke změnám zaznamenaným spektrofotometrickou analýzou²¹. Lépe se rozpouští v ethanolu. Také je popsána celá řada úspěšných substitucí, formulací a forem ke zvýšení rozpustnosti^{22,23}. Špatná biodostupnost této velmi biologicky účinné látky s minimální toxicitou (p. o. u myši $\text{LD}_{50} > 2000$ mg/kg) je příčinou, že jednotlivé perorální dávky kurkuminu 1–5 g/kg nevyvolaly u potkanů žádné toxické účinky²⁴. Nebyly hlášeny žádné případy předávkování. Kurkumin byl izolován v roce 1815, ale až v roce 1910 byla objasněna jeho struktura jako diferuoylmethan ((1*E*,6*E*)-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)hepta-1,6-dien-3,5-dion)²⁵.

Již v roce 1949 bylo publikováno, že kurkumin má antibakteriální vlastnosti²⁶, a to i na *Staphylococcus aureus*, *Salmonella paratyphi*, *Trichophyton gypseum* a mykobakterium způsobujícím tuberkulózu. Poté se po roce 1970 stal předmětem dalšího vědeckého bádání a byly publikovány aktivity jako anti-diabetická²⁷, hypocholesterolemická²⁸, protizánětlivá²⁹ a antioxidační³⁰. Později v osmdesátých letech bylo poukázáno na aktivitu protirakovinnou jak *in vitro*, tak *in vivo*³¹, a to skutečně z mnoha účinků (antiproliferačního, proapoptického, antimetastatického)²³. V roce 1995 bylo publikováno, že vykazuje protizánětlivou aktivitu potlačením prozánětlivého jaderného transkripčního faktoru NF- κ B (cit.³²). Až do současnosti lze dokumentovat výzkum použití kurkuminu jako neuroprotektiva a jako látky pozitivně ovlivňující subjekty s Alzheimerovou chorobou¹⁰. Dále jsou zkoumány jeho extenzivní kardioprotektivní³³, antimalarické³⁴, fungicidní³⁵ a anticytotoxické³⁶ účinky.

V letech 2017–2019 byla provedena klinická studie použití kurkuminu pro udržování nebo zlepšení fyzických a kognitivních funkcí během stárnutí dospělých při zvýšeném riziku jejich postižení³⁷. Klinické testy



turmeron



ar-turmeron

(ClinicalTrials.gov jich udává zatím 272) s kurkuminem byly shrnuty v roce 2013 (cit.³⁸) a 2021 (cit.²³). Je nutno ale přiznat, že existují i zmínky o možném negativním působení kurkuminu na lidské zdraví³⁹, navíc Drugbank online udává 796 možných případů interakce s jinými léčivými²⁴. Publikovány byly i přehledy použití synteticky obměněného kurkuminu²³.

Také turmerony mají zajímavé biologické vlastnosti. Patří k nim aktivita antimykotická⁴⁰, protizánětlivá (psoriasis)⁴¹, použití k prevenci a léčení ulcerózní kolitidy⁴², ale i k prevenci demence⁴³ inhibicí β -sekretasy, ba dokonce i proti poškození hepatocytů vyvolaném ethanolem⁴⁴.

Zdá se, že některé přírodní látky mohou mít tak široké spektrum využití, že je můžeme považovat téměř za univerzální boležoj^{45–47}, což rádi zaznamenáváme a pokračujeme^{48,49} ve zveřejňování „učebních“ textů na taková témata v našich Chemických listech.

LITERATURA

1. Leong-Škorníčková J., Šída O., Marhold K.: *Taxon* 59, 269 (2010).
2. Čopíková J., Uher M., Lapčík O., Moravcová J., Drašar P.: *Chem. Listy* 99, 802 (2005).
3. Bagad A. S., Joseph J. A., Bhaskaran N.: *Adv. Pharm. Sci.* 2013, 805756.
4. Liju V. B., Jeena K., Kuttan R.: *Indian J. Pharmacol.* 43, 526 (2011).
5. Ng T.-P., Chiam P.-C., Lee T.: *Am. J. Epidemiol.* 164, 898 (2006).
6. Prasad S., Aggarwal B. B., v knize: *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects* (Benzie I. F. F., Wachtel-Galor S., ed.), 2. vyd., kap. 13. CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton 2011.
7. Abd El-Hack M. E., El-Saadony M. T., Swelum A. A., Arif M., Abo Ghanima M. M., Shukry M., Noreldin A., Tahah A. E., El-Tarabily K. A.: *Sci. Food Agric.* 101, 5747 (2021).
8. Gupta S. C., Patchva S., Koh W., Aggarwal B. B.: *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 39, 283 (2012).
9. Vo T. S., Vo T. T. B. C., Vo T. T. N., Lai T. N. H.: *J. Turkish Chem. Soc.* 8, 883 (2021).
10. Amalraj A., Pius A., Gopi S., Gopi S.: *Afr. J. Tradit., Complementary Altern. Med.* 7, 205 (2017).
11. Mishra J., Bhardwaj A., Misra K.: *Curcuma sp.: The Nature's Souvenir for High-Altitude Illness*, v knize: *Management of High Altitude Pathophysiology*, str. 153, Academic Press, Elsevier, London 2018.

12. Dioscorides P.: *De materia medica* (Διοσκουρίδης Π.: Περὶ ὕλης ἰατρικῆς), Kilikie mezi roky 50 až 75 n. l.
 13. GRAS Notice (GRN) No. 822, No. 686; <https://www.fda.gov/food/generally-recognized-safe-gras/gras-notice-inventory>, staženo 10. 10. 2021.
 14. FDA Food Additive Status List; <https://www.fda.gov/media/132575/download>, staženo 10. 10. 2021.
 15. Aguilar F. a 18 spoluautorů: EFSA J. 8, 1679 (2010); <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1679>, staženo 10. 10. 2021.
 16. Kumar A., Dora J., Singh A.: Int. J. Appl. Biol. Pharm. Technol. 2, 371 (2011).
 17. Abhishek K., Niharika K., Manisha E., Geetanjali K., Krishna Mohan C., Vamshi Sharathnath K.: Indo Am. J. Pharm. Sci. 8, 30 (2021).
 18. Ruby A. J., Kuttan G., Dinesh Babu K., Rajasekharan K. N., Kuttan R.: Cancer Lett. 94, 79 (1995).
 19. Selvam R., Subramanian L., Gayathri R., Angayarkanni N.: J. Ethnopharmacol. 47, 59 (1995).
 20. Kaminaga Y., Nagatsu A., Akiyama T., Sugimoto N., Yamazaki T., Maitani T., Mizukami H.: FEBS Lett. 555, 31 (2003).
 21. Kurien B. T., Singh A., Matsumoto H., Hal Scofield R.: Assay Drug Dev. Technol. 5, 567 (2007).
 22. Carvalho D. D. M., Takeuchi K. P., Geraldine R. M., de Moura C. J., Torres M. C. L.: Food Sci. Technol. 35, 115 (2015).
 23. Nocito M. C. a 10 spoluautorů: Biomedicines 9, 1476 (2021).
 24. Drugbank online; <https://go.drugbank.com/drugs/DB11672>, staženo 11. 10. 2021.
 25. Milobedzka J., Kostanecki S., Lampe V.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. 43, 2163 (1910).
 26. Schraufstatter E., Bernt H.: Nature 164, 456 (1949).
 27. Srinivasan M.: Indian J. Med. Sci. 26, 269 (1972).
 28. Patil T. N., Srinivasan M.: Indian J. Exp. Biol. 9, 167 (1971).
 29. Srimal R. C., Dhawan B. N.: J. Pharm. Pharmacol. 25, 447 (1973).
 30. Sharma O. P.: Biochem. Pharmacol. 25, 1811 (1976).
 31. Kuttan R., Bhanumathy P., Nirmala K., George M. C.: Cancer Lett. 29, 197 (1985).
 32. Singh S., Aggarwal B. B.: J. Biol. Chem. 270, 24995 (1995).
 33. Hong D., Zeng X., Xu W., Ma J., Tong Y., Chen Y.: Pharm. Res. 61, 142 (2010).
 34. Nayak A. P., Tiyaboonthai W., Patankar S., Madhusudhan B., Souto E. B.: Colloids Surf., B 81, 263 (2010).
 35. Perko T., Ravber M., Knez Ž., Skerget M.: J. Supercrit. Fluids 103, 48 (2015).
 36. Zhang Q., Zhong Y., Yan L., Sun X., Gong T., Zhang Z.: Bioorg. Med. Chem. Lett. 21, 1010 (2011).
 37. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03085680.
 38. Gupta S. C., Patchva S., Aggarwal B. B.: AAPS J. 15, 195 (2013).
 39. Burgos-Morón E., Calderón-Montañó J.-M., Salvador J., Robles A., López-Lázaro M.: Int. J. Cancer 126, 1771 (2010).
 40. Jankasem M., Wuthi-Udomlert M., Gritsanapan W.: Int. Scholarly Res. Not. 2013, 250597.
 41. Yang S., Liu J., Jiao J., Jiao L.: Inflammation 43, 478 (2020).
 42. Zhang L., Li C., Shi Y., Chi Y., Pan C., Xu Y., Luo Y., Xiang H.: Faming Zhuanli Shenqing (2020), CN 111991376.
 43. Matsumura S., Murata K., Zaima N., Yoshioka Y., Morimoto M., Kugo H., Yamamoto A., Moriyama T., Matsuda H.: Nat. Prod. Commun. 11, 1785 (2016).
 44. Megumi C., Muroyama K., Sasako H., Tsuge N.: Food Sci. Technol. Res. 23, 275 (2017).
 45. Jurášek M., Opletal L., Kmoníčková E., Drašar P.: Chem. Listy 115, 363 (2021).
 46. Kodr D., Rumlová M., Zimmermann T., Džubák P., Drašar P., Jurášek M.: Chem. Listy 114, 658 (2020).
 47. Jurášek M., Opletal L., Drašar P.: Chem. Listy 115, 458 (2021).
 48. Lapčík O., Čopíková J., Uher M., Moravcová J., Drašar P.: Chem. Listy 101, 44 (2007).
 49. Čopíková J., Lapčík O., Uher M., Moravcová J., Drašar P.: Chem. Listy 100, 778 (2006).
- M. Jurášek and P. Drašar** (*Department of Chemistry of Natural Compounds, University of Chemistry and Technology, Prague*): **Turmeric, Yellow Miracle from the East**
- Turmeric, Indian saffron, is being used for at least 4000 years. It is a well known medicinal drug and spice. Curcumin, the its main component, has vast biological activity, *i.a.* as an antibacterial, antidiabetic, hypocholesteromic, anti-inflammatory, antioxidant, neuroprotective, and even anticancer agent.
- Full text English translation is available in the on-line version.
- Keywords: turmeric, curcuminoids, curcumin, E100
- Jurášek M., Drašar P.: Chem. Listy 116, 293–295 (2022).
 - <https://doi.org/10.54779/chl20220293>

NORMY JAKO INFORMAČNÍ ZDROJ PRO LABORATOŘE

JOSEF KRATOCHVÍLA^a, ZBYNĚK PLZÁK^b a JAN VILÍMEC^c

^aSEKK spol. s r.o., P.O. Box B35, 530 01 Pardubice,
^bÚstav anorganické chemie AV ČR, v.v.i., 250 68 Husinec-
Řež, ^cPražské vodovody a kanalizace, a.s., Ke Kablu
971/1, 102 00 Praha 10
plzak@iic.cas.cz

Došlo 2.11.21, přijato 30.12.21.

Klíčová slova: norma, mezinárodní norma, standardizace, platnost, přístup online

• <https://doi.org/10.54779/chl20220296>

Obsah

1. Poslání norem
2. Historie používání norem v ČR
3. Národní, evropská a mezinárodní standardizace
4. Tvorba norem a převzetí norem
5. Formát norem
6. Revize a platnost norem
7. Technická normalizační informace
8. Vyhledávání norem a TNI
9. Získání přístupu ke znění norem a TNI

1. Poslání norem

Co jsou normy? Technická norma (dále v textu zkratkou často jen „norma“) je dokument založený na shodě zainteresovaných stran, schválený uznávaným (normalizačním) orgánem, který poskytuje pro běžné a opakované použití pravidla, směrnice nebo charakteristiky o navrhování, používání nebo fungování materiálů, výrobků, procesů, služeb, systémů nebo osob¹. Normy jsou kvalifikovaná doporučení, nikoli povinná nařízení. Jejich používání je dobrovolné, avšak všestranně výhodné. Normy nejsou obecně závazné, jsou to však odborně kvalifikované předpisy, na které se mohou odkazovat smluvní strany při specifikaci předmětu smlouvy nebo státní autorita ve svých obecně závazných předpisech. Umožňují například výměnu výrobků nebo zaměnitelnost součástí a tím zlepšují hospodárnost výroby i bezpečnost výrobků. Stanovením závazných parametrů výrobků přispívají také k ochraně spotřebitele. Mezinárodní normy definují také soustavy jednotek, užívané pojmy, kódy, formáty, protokoly nebo rozhraní, například v oblasti informatiky a komunikace,

kteří umožňují propojování různých zařízení, komunikačních a dopravních systémů. Pro analytické laboratoře všech oborů jsou normy platformou, ve které jsou celosvětově formulovány nejen postupy některých rutinních analýz, ale i požadavky na kompetenci laboratorů a kvalitu jejich práce a splnění těchto požadavků je pak posuzováno ve vlastním procesu jejich akreditace. Obdobně pak další normy formulují požadavky na kompetenci poskytovatelů zkoušení způsobilosti, na kompetenci výrobců referenčních materiálů a nově i pro provozovatele biobank, které se musí splnit, aby tyto subjekty mohly získat akreditaci. Normy obvykle nejsou volně šířitelné a poskytují se za úplatu.

2. Historie používání norem v ČR

Technická normalizace byla na národní úrovni zorganizována na začátku 20. století hned po vzniku samostatného československého státu. Československé normy (ČSN) byly do roku 1951 dobrovolné, přesto měly nepochybnou autoritu díky vysoké úrovni technických řešení a jejich normalizačnímu zpracování. Tvořily základ předpisů profesních svazů, byly široce využívány v soutěžích o veřejné zakázky a významně se uplatňovaly i v pojišťovnictví². Po začlenění technické normalizace do státní správy v r. 1951 se dobrovolné normy změnilly ve státní, které byly ze zákona závazné. Jejich novou úlohou bylo tehdy při neexistenci tržních principů regulovat jakost výrobků zárodněho průmyslu, později také nahrazovaly právní předpisy v oblasti bezpečnosti práce. V současnosti české normy nejsou v ČR na rozdíl od situace do r. 1991 závazné, stejně jako jinde ve světě. Zákon č. 22/1997 Sb. výslovně uvádí, že česká technická norma (zkratka ČSN zůstala nezměněna) není obecně závazná. Z toho vyplývá, že ČSN obecně nejsou považovány za právní předpisy a není stanovena povinnost jejich dodržování. Stejně jako všude jinde ve světě však existují případy, že povinnost dodržovat požadavky uvedené v normách vyplývá z jiného právního aktu, jako je: právní předpis, smlouva, vládní a ministerská nařízení a vyhlášky, apod. Jako příklad je možné uvést normy o vzorkování odpadních vod ČSN EN ISO 5667-1, 3, 10, které jsou výslovně uvedeny v příslušné vyhlášce o poplatcích za vypouštění odpadních vod³ a tudíž je jejich dodržování závazné.

3. Národní, evropská a mezinárodní standardizace

Na národní úrovni je základním útvarem zajišťujícím standardizaci národní normalizační orgán. V posledních

letech došlo v ČR ke změnám organizace zajišťující roli tohoto orgánu^{2,4}. Český normalizační institut (ČNI) zajišťoval tvorbu, vydávání a zveřejňování českých technických norem do roku 2008, pak převzal tuto úlohu Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví (ÚNMZ). Od roku 2018 převzala od ÚNMZ všechny činnosti související s tvorbou, vydáváním a distribucí norem jím zřízená Česká agentura pro standardizaci (ČAS). Každá původní česká norma, je označována ČSN (např. ČSN 73 4301) a každá evropská, mezinárodní či elektrotechnická norma (označena např. EN, ISO, IEC), která je převzata do soustavy českých norem se stává normou českou a je označena např. ČSN EN, ČSN ISO, ČSN EN ISO (např. ČSN EN 13612, ČSN EN ISO 15189).

Normalizace na evropské úrovni je představována třemi evropskými organizacemi CEN, CENELEC a ETSI. Evropský výbor pro normalizaci (European Committee for Standardization, Comité Européen de Normalisation – CEN), založený v roce 1961, je jednou ze tří evropských normalizačních organizací společně s Evropským výborem pro normalizaci v elektrotechnice (Comité Européen de Normalisation Électrotechnique, CENELEC) a Evropským ústavem pro telekomunikační normy (European Telecommunications Standards Institute, ETSI). Tyto tři organizace byly oficiálně uznány Evropskou unií a Evropským sdružením volného obchodu (European Free Trade Association, EFTA) jako odpovědné za tvorbu a vydávání evropských norem. Česká republika je od roku 1997 plnoprávným členem CEN a má povinnost stejně jako všichni ostatní členové Evropské unie, bez ohledu na velikost a vyspělost národních ekonomik, převzít zpravidla do šesti měsíců do své národní soustavy ČSN všechny evropské normy. Harmonizovanou normou se nazývá norma vypracovaná na základě mandátu uděleného CEN, CENELEC nebo ETSI Evropskou komisí a Evropským sdružením volného obchodu, která poskytuje prostředky shody se základními požadavky směrnice, popřípadě směrnic nového přístupu.

Mezinárodní organizace pro normalizaci (angl. International Organization for Standardization), označovaná jako ISO, je světovou federací národních normalizačních organizací se sídlem v Ženevě. Byla založena v roce 1947, v současnosti je jejími členy 165 národních orgánů⁵. Mezinárodní organizace pro normalizaci se zabývá tvorbou mezinárodních norem ISO a jiných druhů dokumentů ve všech oblastech normalizace kromě elektrotechniky. Tu pokrývá Mezinárodní elektrotechnická komise – International Electrotechnical Commission, IEC a Mezinárodní telekomunikační unie – International Telecommunication Union, ITU. Normy ISO a další výstupy z ISO představují konsenzus mezinárodních odborníků v dané oblasti v daném oboru. Zastupující institucí pro Českou republiku – jakožto řádného člena ISO – je od roku 2009 Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví.

4. Tvorba norem a převzetí norem

Technické komise jsou základním pracovním orgánem mezinárodních, evropských i národních normalizač-

ních organizací. Původní ČSN tvoří v současné době pouze velmi malou část (5 %) roční produkce vydávaných nových ČSN. Většina, tj. více než 1500 každoročně vydávaných nových ČSN, jsou převzaté evropské a mezinárodní normy^{2,4}. Evropské a mezinárodní normy vytvářejí odborníci z členských zemí, kteří reprezentují národní normalizační organizace v technických komisích evropských a mezinárodních normalizačních organizací. Ti musí návrhy evropských a mezinárodních norem na národní úrovni projednat, a to především s členy národních technických komisí (v ČR jsou to tzv. Technické normalizační komise, TNK) tak, aby výsledek co nejvíce vyhovoval i národním potřebám. Schvalování norem a normativních dokumentů je definováno na základě konsenzu, s návrhem normy musí souhlasit většina účastníků připomínkového řízení.

Každá evropská či mezinárodní norma (označena např. ISO, IEC, EN, ETSI), která je přejata do soustavy českých norem, se stává normou českou a je označena např. ČSN EN ISO/IEC 17025. Převzetí evropských norem je povinné a vyplývá ze členství v evropských normalizačních organizacích. Převzetí evropské nebo mezinárodní normy je možné třemi způsoby: a) překladem (tj. vydáním ČSN, obsahující národní titulní stranu, národní předmluvu, úplný překlad originálu přejímané normy a národní přílohu), b) převzetím originálu (vydáním ČSN obsahující národní titulní stranu, národní předmluvu, přetisk cizojazyčné verze přejímané normy a národní přílohu (je-li potřebná), nebo c) převzetím schválením k přímému používání tj. „vydáním“ obálky s českým názvem a označením převzaté normy, do které je vložen anglický originál přejímané normy.

5. Formát norem

Normy jsou publikovány v určité formální podobě s titulním listem obsahujícím číslo normy, její název, značky třídění (viz dále) a další základní informace. Normy se člení na kapitoly a ty na číslované články. Součástí normy mohou být i přílohy. Používají se dva druhy příloh: normativní a informativní. Normy mají závaznou strukturu i úpravu specifikovanou v metodických pokynech normalizační instituce. Pro překlady evropských a mezinárodních norem jsou též stanoveny určité zásady, nejdůležitější překlady bývají publikovány s dvousloupcovou sazbou, jak originál, tak překlad v levém sloupci a obsahují na začátku zpravidla i národní předmluvu.

6. Revize a platnost norem

Oproti např. vědeckým publikacím v odborných časopisech je významnou vlastností norem jejich platnost. Tak např. norma ČSN EN ISO/IEC 17025 *Všeobecné požadavky na kompetenci zkušebních a kalibračních laboratoří* z roku 2018 nahradila ČSN EN ISO/IEC 17025 z roku 2005. Jednotlivá vydání norem se mohou velmi obsahově lišit a je proto zcela zásadní při citaci uvádět rok vydání normy. Platnost normy, pokud z ní chceme čerpat, je nutně

zkontrolovat na stránkách vydavatele. Aby bylo zajištěno u norem ISO, že zůstanou aktuální a globálně relevantní, platí, že jsou přezkoumávány nejméně každých pět let⁶. V rámci stanoveného procesu systematické revize přezkoumávají národní normalizační orgány dokument a jeho používání ve své zemi a podávají návrh, zda dokument bude stále platný, měl by být aktualizován nebo stažen. V některých oblastech je tempo vývoje takové, že když je norma ISO zveřejněna, odborníci v technickém výboru, kteří ji vypracovali, již přemýšlejí o další verzi!

7. Technická normalizační informace

Kromě norem se lze setkat s dalším druhem českého normalizačního dokumentu označovaného TNI (Technická normalizační informace)². TNI je buď národní dokument nebo převzatá technická zpráva či veřejně dostupná specifikace evropských nebo mezinárodních normalizačních organizací. Používá se pro technický dokument informativního charakteru, který obsahuje technické údaje nebo technická řešení, která nejsou obsažena v platných normách nebo která ještě nemají předpoklad pro zpracování na úrovni normy. Další užití je zejména pro převzaté mezinárodní nebo evropské dokumenty evropských a mezinárodních normalizačních organizací, které doplňují soubor norem. Technické normalizační informace se označují zkratkou TNI a šestimístným číslem podle zásad shodných s tříděním českých norem (ČSN) např. TNI 01 0115, pro jejich formát platí totéž, co pro normy. Forma TNI se v poslední době často používá při převzetí Pokynů (Guide) – dokumentů vydaných ISO, CEN nebo IEC. Jako příklady je možné uvést *Nejistoty měření – Část 3: Pokyn pro vyjádření nejistoty měření (GUM:1995)* (Pokyn ISO/IEC 98-3) vydáno jako TNI 01 4109-3 (2011), *Mezinárodní metrologický slovník – Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny (VIM)* jako TNI 01 0115 (2009). I série Pokynů o referenčních materiálech byla převzata do formátu TNI, např. *Referenční materiály – Vybrané termíny a definice* vydáno jako TNI POKYN ISO 30 (2016). V seznamu normativních dokumentů na stránkách ČAS je nutno TNI vyhledávat v samostatné kategorii, viz následující oddíl.

8. Vyhledávání norem a TNI

Databáze norem jsou umístěny zpravidla na webu vydavatele. Užitečným pomocníkem při vyhledávání českých norem je seznam norem ČSN a TNI. Seznam je přístupný na webu ČAS na adrese <http://seznamcsn.agentura-cas.cz/> (cit.⁷). Seznam norem je přístupný zdarma a umožňuje jednak vyhledání normy a zároveň poskytne základní informace o normě včetně obsahu normy a předmětu normy. U většiny norem je možno kliknutím na tlačítko „Náhled“ získat náhled textu úvodní části normy často včetně obsahu. Normy je možno vyhledávat podle různých kritérií: označení normy, třídícího znaku nebo jeho části (seznam tříd a skupin je v nápovědě formuláře vyhledáva-

če) – a dalších kritérií formulace dotazu pomocí vyhledávacího formuláře. Výchozí nastavení formuláře je, že se vyhledávají jen platné normy, to lze změnit v záhlaví formuláře. Specifikou českých norem je, že normy jsou děleny do tříd a skupin. Základy tohoto dělení vznikly v polovině minulého století, kdy se u nás začalo s tímto dělením norem. Každá norma byla označena zkratkou ČSN a šestimístným číslem: ČSN XX YYAA, kde XX – je označení třídy, YY – je označení skupiny, AA – je pořadové číslo ve skupině. Význam tohoto dělení spočíval v tom, že bylo velmi snadné, při znalosti tohoto jednoduchého systému dělení, rychle vyhledat normy požadovaného zaměření. Každá norma na titulní straně kromě označení normy (např. ČSN EN ISO 9001) má uveden pod tímto označením tzv. třídící znak – šestimístné číslo, které normu zařadí do soustavy norem. Například vodní hospodářství má třídu 75. Na formuláři je dostupný seznam tříd, zahrnující i podrobnější třídění do skupin. V mezinárodních databázích (ale i v našich) je možné použít i vyhledávání podle mezinárodního klasifikačního systému ICS (International Classification for Standards). TNI je na stránkách ČAS nutno vyhledávat obdobně v samostatné kategorii, na rozdíl od norem TNI nepřijímají číselné označení originálu, a tak je jejich vyhledání často obtížnější, je optimální hledat podle názvu originálního anglického dokumentu.

9. Získání přístupu ke znění norem a TNI

V současné době je možný přístup k plnému textu českých norem dvěma způsoby: a) tradičním – formou nákupu jednotlivých norem v papírové formě v Zákaznickém centru ČAS, viz <https://www.agentura-cas.cz/o-nas/zakaznicke-centrum/> (viz cit.⁸), nebo u distributorů technických norem. ČAS nabízí i znění evropských norem, nákup norem vydavatelů ASTM (USA), BSI (Velká Británie), DIN (Německo), ÚNMS (Slovensko), zprostředkováni nákup mezinárodních norem ISO a IEC a přístup do placených databází těchto vydavatelů, b) prostřednictvím ČSN ONLINE – přes webový portál ČAS formou předplatného pro přístup k elektronickým verzím norem. Cena přístupu je stanovena vyhláškou v několika modulech v závislosti na možnostech tisku, viz <https://www.agentura-cas.cz/produkty-a-sluzby/csn-online/> (cit.⁹). ČAS nově nabízí řešení všem vysokým školám technického typu tak, aby přístup do ČSN ONLINE prostřednictvím České agentury pro standardizaci měli bez možnosti tisku všichni tamní studenti. České normy nebo jejich části vydané na jakémkoliv nosiči smějí být, pokud zvláštní zákon (Zákon č. 183/2006 Sb., o územním plánování a stavebním řádu (stavební zákon)) nestanoví jinak, rozmnožovány a rozšiřovány jen se souhlasem pověřené právnické osoby. Nově v roce 2021 v souladu se zákonem č. 526/2020 Sb., kterým se mění zákon č. 22/1997 Sb., umožňuje ČAS tzv. „sponzorovaný přístup“ k technickým normám v případě, že je v právním předpise uveden výlučný odkaz na normu a tato norma se tak stává závaznou a je stanovena povinnost podle této normy postupovat. Po bezplatné registraci ČAS umožňuje uživatelům, kteří mají zákonnou povinnost

Tabulka I
Vybrané normy a TNI s významem pro laboratoře

Číslo:rok	Název
ČSN EN ISO/IEC 17025:2018	Všeobecné požadavky na kompetenci zkušebních a kalibračních laboratoří General requirements for the competence of testing and calibration laboratories
ČSN EN ISO 15189 ed. 2: 2013*	Zdravotnické laboratoře – Požadavky na kvalitu a způsobilost Medical laboratories – Requirements for quality and competence
ČSN EN ISO/IEC 17043:2010*	Posuzování shody – Obecné požadavky na zkoušení způsobilosti Conformity assessment – General requirements for proficiency testing
ČSN EN ISO 17034:2017	Všeobecné požadavky na kompetenci výrobců referenčních materiálů General requirements for the competence of reference material producer
TNI 01 0115:2009	Mezinárodní metrologický slovník – Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny (VIM) International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM)
TNI POKYN ISO 35:2019	Referenční materiály – návod pro charakterizaci a hodnocení homogenity a stability materiálu Reference materials – Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability
TNI POKYN ISO/IEC 98-4:2020	Nejistota měření – Část 4: Úloha nejistoty měření při posuzování shody Uncertainty of measurement – Part 4: Role of measurement uncertainty in conformity assessment
ČSN EN ISO 19011:2019	Směrnice pro auditování systémů managementu Guidelines for auditing management systems

* Návrh nové verze normy je ve schvalovacím řízení

postupovat podle normy, zobrazení norem pro čtení prostřednictvím portálu „Sponzorovaný přístup k ČSN“ <https://sponzorpristup.agentura-cas.cz/default.aspx> (cit.¹⁰). Týká se to např. norem pro stavebnictví, dopravu, elektrotechniku a bezpečnost. V současné době se nejedná o normy, které by byly předmětem prioritního zájmu analytických a zdravotnických laboratoří. Vybrané normy a TNI s významem pro analytické laboratoře uvádí tabulka I.

LITERATURA

1. Dupal L., Jankech A.: *Mezinárodní normy pro nás všechny*. Sdružení českých spotřebitelů, Praha 2012, ISBN 978-80-904633-9-4, dostupné na <https://www.konzument.cz/users/publications/3-mimo-edice/51-mezinarodni-normy-pro-nas-vsechny.pdf>, staženo 18. 10. 2021.
2. Česká agentura pro standardizaci <https://www.agentura-cas.cz/standardizace/>, staženo 18. 10. 2021.
3. Vyhláška 328/2018 Sb. *o postupu pro určování znečištění odpadních vod, provádění odečtů množství*

4. ÚNMZ: *Často kladené otázky – technická normalizace*, <https://www.unmz.cz/caste-dotazy/casto-kladene-otazky-technicka-normalizace/>, staženo 18. 10. 2021.
5. ISO: *About us*, <https://www.iso.org/about-us.html>, staženo 18. 10. 2021.
6. ISO: *Guidance on the systematic review process in ISO*, ISO Geneva Switzerland 2019, <https://www.iso.org/publication/PUB100413.html>, staženo 18. 10. 2021.
7. <http://seznamcsn.agentura-cas.cz/>, staženo 18. 10. 2021.
8. <https://www.agentura-cas.cz/o-nas/zakaznicke-centrum/>, staženo 18. 10. 2021.
9. <https://www.agentura-cas.cz/produkty-a-sluzby/csn-online/>, staženo 18. 10. 2021.
10. <https://sponzorpristup.agentura-cas.cz/default.aspx>, staženo 18. 10. 2021.

J. Kratochvíla^a, Z. Plzák^b, and J. Vilímec^c (^aSEKK Ltd., Pardubice, ^bInstitute of Inorganic Chemistry of the Czech Academy of Sciences, Husinec-Řež, ^cPrague Water Supply and Sewerage Company, Prague): **Standards as Information Source for Laboratories**

The article provides an overview of the role of standards, their development, characteristics, validity and retrieval, including the way of how to obtain their full texts. It discusses international, European and Czech standardization bodies. It also deals with the implementation of international standards into the Czech standards system. It gives a list of selected Czech standards and standardization documents of relevance to analytical laboratories.

Keywords: standard, international standard, standardization, validity, online access

● Kratochvíla J., Plzák Z., Vilímec J.: Chem. Listy 116, 296–300 (2022).

● <https://doi.org/10.54779/chl20220296>

23. Škola hmotnostní spektrometrie

4. – 9. září 2022

OREA Resort Devět Skal, Vysočina

REGISTRACE OTEVŘENA!



- Krátké kurzy (základy MS, interpretace spekter, analýza dat, proteomika pro začátečníky, MS zobrazování, kapalinová chromatografie v MS)
- Odborný program zaměřen na hmotnostní spektrometrii a její aplikace
- Pozvaný přednášející: **Prof. Stephen Blanksby (QUT, Austrálie)**
- Společenské večery a výlety

Více informací na: <http://skolams2022.spektroskopie.cz/>

LIMONÉN A JEHO OXIDOVANÉ DERIVÁTY: VLASTNOSTI, APLIKÁCIE A BIOTECHNOLOGICKÁ PRODUKCIA

KATARÍNA KANIAKOVÁ, HELENA HRONSKÁ,
DOMINIKA ŠILHÁROVÁ a MICHAL
ROSENBERG

Ústav biotechnológie, Fakulta chemickej a potravinárskej
technológie, Slovenská technická univerzita, Radlinského
9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika
helena.hronska@stuba.sk

Došlo 26.4.21, prijaté 10.1.22.

Kľúčové slová: limonén, oxidované deriváty, aplikácie,
biotransformácia, biologická aktivita

● <https://doi.org/10.54779/chl20220301>

Obsah

1. Úvod
2. Limonén
 - 2.1. Vlastnosti
 - 2.2. Aplikácie
 - 2.3. Zdroje limonénu
 - 2.4. Biotechnologická produkcia limonénu
3. Oxidované deriváty limonénu
 - 3.1. Perilylalkohol a kyselina perilová
 - 3.2. Karveol a karvón
 - 3.3. Limonén-1,2-epoxid a limonén-1,2-diol
 - 3.4. α -Terpineol
 - 3.5. Izopiperitenol a limonén-8,9-epoxid
4. Záver

1. Úvod

Jedným z najčastejšie sa vyskytujúcich monoterpénov v prírode je cyklický monoterpén limonén. Existuje v dvoch enantiomérnych formách, *R*-(+)- a *S*-(-)-limonén. Spomedzi nich sa častejšie vyskytuje (+)-limonén, ktorý je majoritnou zložkou citrusových esenciálnych olejov. V súčasnosti sa získava ako vedľajší produkt pri výrobe citrusových štiav. Jeho ročná produkcia dosahuje 60 000 t a predpokladá sa, že do roku 2023 narastie na viac ako 65 000 t/rok (cit.^{1,2}).

Limonén je atraktívnym substrátom pre produkciu cenných terpenoidných zlúčenín, akými sú napr. α -terpineol, perilylalkohol, karveol, karvón a mentol. Regiošpecifické vnesenie hydroxylovej alebo karbonylovej skupiny do štruktúry limonénu pomocou chemických me-

tód je veľmi náročné. Aj preto sa biotransformáciami (+)-limonénu vedci zaoberajú už od šesťdesiatych rokov minulého storočia. Odvtedy bolo identifikované veľké množstvo mikroorganizmov schopných transformovať limonén na enantioméne čisté produkty s aplikačným alebo syntetickým potenciálom v rôznych priemyselných odvetviach.

2. Limonén

2.1. Vlastnosti

Limonén je bezfarebná až do žltá sfarbená, olejovitá kvapalina s nízkou rozpustnosťou vo vode, ktorá je americkou Správou potravín a liečiv (Food and Drug Administration, FDA) všeobecne považovaná za bezpečnú (Generally Recognized as Safe, GRAS)³. Vyskytuje sa v dvoch enantiomérnych formách, (*R*)- a (*S*)-limonén. Pravotočivý izomér, (*R*)-(+)-limonén, má typickú pomarančovú arómu a vyskytuje sa v rôznych rastlinách, najmä v kôre plodov *Citrus spp.*, akými sú napr. pomaranče, citróny a mandarínky. Druhý izomér, (*S*)-(-)-limonén sa vyznačuje terpentínovou vôňou a je prítomný v esenciálnych olejoch z rastlín rodu *Mentha spp.* a *Pinus spp.*^{4,5}. Okrem toho existuje limonén aj vo forme racemickej zmesi, označovanej ako dipentén⁶. Základné fyzikálne a chemické vlastnosti izomérov limonénu sú zhrnuté v tab. I.

Limonén je málo toxický pri orálnom požití, nie je genotoxický ani teratogénny⁷. Čistý limonén pri kontakte s pokožkou je iba minimálne dráždivý, avšak jeho alergénosť súvisí s procesom jeho oxidácie. Oxidatívne produkty – hydroperoxydy a karvón sú silné kontaktné alergény⁸.

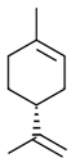
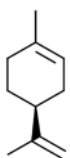
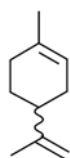
2.2. Aplikácie

(+)-Limonén je bežne využívaný v potravinárstve ako aróma a ochucovadlo v cukrovinkách, žuvačkách, nealko nápojoch či zmrzlínach. Je tiež jednou z najčastejšie používaných aromatických látok v kozmetike. Bežne sa vyskytuje ako súčasť mydiel, sprchových gélov, šampónov, kondicionérov a parfúmov⁴. Je tiež súčasťou rôznych čistiacich prostriedkov a osviežovačov vzduchu⁹.

Limonén bol jednou z prvých schválených prírodných prípadov v pesticídoch (v USA bol registrovaný už v roku 1958). Insekticídne vlastnosti boli popísané napr. voči hmyzu z nadčľaďade *Coccoidea*¹⁰. U parazitického prvoka spôsobujúceho maláriu, *Plasmodium falciparum*, limonén inhibuje izoprenyláciu proteínov a zastavuje tak jeho rast¹¹. Nízka orálna a dermálna toxicita voči cicavcom umožnila jeho použitie v prípravkoch proti kliešťom a blchám, aj v repelentoch proti hmyzu⁵. Limonén vykazu-

Tabuľka I

Vlastnosti izomérov limonénu^{61–65}

Vlastnosť	(+)-Limonén	(-)-Limonén	Racemický limonén
Štruktúra			
Iné používané názvy	D-limonén (R)-limonén	L-limonén (S)-limonén	dipentén rac-limonén
IUPAC názov	(R)-1-metyl-4-prop-1-én-2-yl- -cyklohexén	(S)-1-metyl-4-prop-1-én-2-yl- -cyklohexén	1-metyl-4-prop-1-én-2-yl- -cyklohexén
CAS číslo	5989-27-5	5989-54-8	138-86-3
Molekulová hmotnosť, g mol ⁻¹	136,23	136,23	136,23
Teplota topenia, °C	-74,0 (cit. ⁶²)	-74,0 (cit. ⁶³)	-86,4 (cit. ⁶⁴)
Teplota varu, °C	177,0 (cit. ⁶²)	177,0 (cit. ⁶³)	176,0 (cit. ⁶⁴)
Teplota vzplanutia, °C	44,8 (cit. ⁶²)	44,9 (cit. ⁶³)	45,1 (cit. ⁶⁴)
Hustota, g ml ⁻¹ (pri 20 °C)	0,8411	0,8422	0,8402
Tlak pár, Pa (pri 20 °C)	190	190	190
Rozpustnosť vo vode, mg l ⁻¹ (pri 25 °C)	13,8 (cit. ⁶⁵)	–	–
Koeficient prestupu oktanol/ voda, Log K _{OW}	4,23	4,57 (cit. ⁶³)	4,83

je bakteriostatické a baktericídne účinky voči viacerým patogénnym baktériám, ako napr. *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* a *Listeria monocytogenes*. Toxicita limonénu je pravdepodobne spojená s jeho lipofilitou a ovplyvňuje tak membránový transport a metabolizmus buniek⁶.

Z medicínskeho hľadiska je limonén zaujímavý pre svoje chemoterapeutické a chemopreventívne vlastnosti, ktoré boli popísané voči viacerým druhom nádorových buniek spôsobujúcich napr. rakovinu pľúc, prostaty alebo prsníka¹². (+)-Limonén je súčasťou komerčných výživových doplnkov deklarujúcich podporu metabolizmu a detoxifikáciu organizmu.

V chemickom priemysle predstavuje ekologickú alternatívu k toxickým organickým rozpúšťadlám získavaných z fosílnych palív. Limonén je potenciálnou náhradou za rozpúšťadlá ako napr. hexán, toluén a dichlórmetán⁵.

2.3. Zdroje limonénu

V priemyselnom meradle sa (+)-limonén získava predovšetkým ako vedľajší produkt pri spracovaní odpadu z citrusov. Ročne sa vyprodukuje približne 25–30 miliónov ton pomarančových šupiek ako odpad pri výrobe pomarančových džúsov¹³. Biomasa z citrusov je cenným zdrojom pektínu a dá sa tiež použiť ako substrát na biotechnologickú výrobu etanolu, metánu, alebo kyseliny citrónovej¹⁴. Na to, aby bolo možné biomasu takto využiť,

je nutné z nej najprv odstrániť limonén, ktorý inhibuje mikroorganizmy používané v týchto procesoch¹⁵. Limonén pritom predstavuje až 3,8 % zo sušiny citrusového odpadu¹⁴.

Racemický limonén je možné pripraviť z terpentínu (produkcia 450 t/rok v USA), ale aj pyrolýzou starých pneumatík¹⁵. Takto produkovaný limonén je vhodný iba na technické účely.

Dopyt po limonéne každým rokom narastá, pričom jeho cena je priamo závislá na sezónnej produkcii citrusov a kvality suroviny použitej na extrakciu. Chemický získaný limonén nie je opticky čistý, a preto ho nemožno označiť kvalitou „food-grade“¹⁶. Z uvedených dôvodov je otázka biotechnologickej prípravy (+)-limonénu veľmi atraktívna. Doposiaľ neboli objavené mikroorganizmy s prirodzenou nadprodukciou limonénu, preto sa štúdium zameriava na metabolické inžinierstvo. Výhodou je jeho enantiošpecifická syntéza a možnosť zakomponovať do biosyntetickej dráhy limonénu aj jeho následnú oxidáciu na jeden z jeho viacerých cenných oxidatívnych derivátov¹⁵.

2.4. Biotechnologická produkcia limonénu

Biosyntéza všetkých terpenov v organizmoch môže prebiehať jednou z dvoch dráh, mevalonátovou (MVA) dráhou alebo metylerytritol-4-fosfátovou (MEP) dráhou. MVA dráha sa vyskytuje zvyčajne u živočíchov,

v kvasinkách, archaebaktériách, a niektorých G⁺ baktériách, zatiaľ čo MEP dráha je prítomná predovšetkým v baktériách¹⁷. Rastliny si syntetizujú terpeny oboma dráhami, pričom MEP dráha prebieha v plastidoch a MVA dráha v cytosole¹⁵. Posledným krokom biosyntézy limonénu u rastlín je reakcia katalyzovaná limonénsyntázou (LS). V závislosti od zdroja sa tvorí zvyčajne iba jeden izomér limonénu. Nakoľko sa tento enzým nevyskytuje v mikroorganizmoch, pri mikrobiálnej produkcii limonénu je nutná jeho heterológna expresia v hosťovskom organizme¹⁵.

Hlavnými problémami mikrobiálnej produkcie limonénu je komplikovaná metabolická a regulačná sústava obmedzujúca tvorbu izoprenoidov a predovšetkým cytotoxicita samotného produktu. Zatiaľ najčastejšie využívaným a najefektívnejším spôsobom je fermentácia s *in situ* extrakciou produktu pomocou organického rozpúšťadla netoxického pre produkčný organizmus¹⁶.

Maximálna mikrobiálna produkcia limonénu ((-)-izomér) bola zatiaľ popísaná v *E. coli* (3,63 g l⁻¹). Ako zdroj uhlíka slúžil glycerol a biosyntéza prebiehala pomocou heterológne exprimovanej MVA dráhy a LS z *Mentha spicata*¹⁸. Na to, aby tento spôsob produkcie limonénu bol schopný konkurovať súčasnému spôsobu výroby limonénu, je nutné, aby produktivita procesu bola minimálne na úrovni 0,7 g l⁻¹ h⁻¹ a špecifický výťažok uhlíka v procese predstavoval minimálne 45 % (cit.²). V súčasnosti maximálna produktivita procesu dosahuje len 0,15 g l⁻¹ h⁻¹ a konverzia uhlíka na produkt predstavuje menej ako 1 % (cit.¹⁸).

Alternatívnou možnosťou biosyntézy limonénu sú enzýmové systémy, avšak vzhľadom na vysokú cenu kofaktorov a purifikovaných enzýmov je priemyselne ekonomicky nevýhodná. Takýto systém navrhli Korman a spol.¹⁹ a pozostával z 27 enzýmov umožňujúcich konver-

ziu glukózy až na limonén, pričom v systéme dochádzalo aj k regenerácii potrebných kofaktorov (ATP a NAD(P)H). Produkcia limonénu dosiahla až 12,5 g l⁻¹ (výťažok 88,4 %), pričom systém bol stabilný po dobu 5 dní pri jednom prídavku glukózy¹⁹.

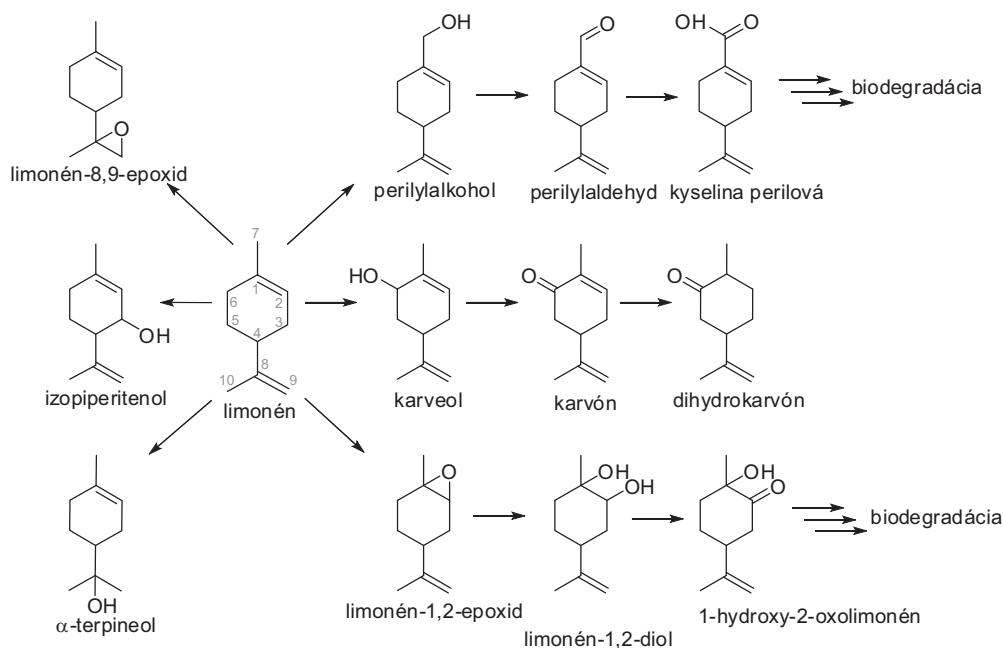
3. Oxidatívne deriváty limonénu

Regiošpecifickou oxidáciou izomérov limonénu je možné získať produkty s vysokou pridanou hodnotou. Ako príklad môžeme uviesť oxidáciu (+)-limonénu na perilylalkohol, karveol, karvón alebo limonén-1,2-diol, ktorých cena prevyšuje hodnotu substrátu aj viac ako 10násobne^{20,21}. V literatúre bolo doteraz popísaných 6 základných dráh jeho biotransformácie v mikroorganizmoch (obr. 1).

Vo všeobecnosti katalyzuje prvý krok oxidácie limonénu hydroxyláza alebo monoxygenáza, ktoré majú zvyčajne rôznu špecifitu v závislosti od zdroja/producenta. Pri hľadaní mikrobiálnych producentov sa kladie dôraz na získavanie enantioselektívnych enzýmov, nakoľko rozdielne enantioméry derivátov limonénu môžu mať rozdielne senzorické vlastnosti, ako je to napr. u izomérov karvónu, ktorého (*R*)-izomér má vôňu mäty, zatiaľ čo (*S*)-karvón má rascovú arómu²².

3.1. Perilylalkohol a kyselina perilová

Oxidáciou metylovej skupiny (+)- alebo (-)-limonénu na uhlíku C₇ vzniká príslušný stereoizomér perilylalkoholu, perilylaldehydu a kyseliny perilovej. Perilylalkohol a kyselina perilová sú zaujímavé najmä kvôli svojim chemopreventívnym a chemoterapeutickým vlastnostiam voči viacerým typom rakovinových buniek^{23,24}.



Obr. 1. Mikrobiálne dráhy biotransformácie limonénu

Mikrobiálna transformácia limonénu na kyselinu perilovú zahŕňa jeho oxidáciu v troch krokoch. Najprv nastáva oxidácia limonénu na perilylalkohol pomocou monoxygenázy. Po nej nasleduje dehydrogenácia na perilylaldehyd a nakoniec je aldehyd oxidovaný na kyselinu perilovú pomocou aldehyddehydrogenázy²⁴.

Pri produkcii perilylalkoholu je dôležité použiť mikroorganizmus schopný selektívne oxidovať limonén na uhlíku C₇, pričom nemôže dochádzať k preoxidácii až na kyselinu perilovú. Spomedzi bakteriálnych izolátov degradujúcich *n*-alkány bolo identifikovaných viacero kmeňov schopných tejto regiošpecifickej oxidácie limonénu. Technikami génového inžinierstva boli postupne zvýšené výťažky perilylalkoholu rekombinantných producentov z 2,3 g l⁻¹ u *Pseudomonas putida* GPO12 (cit.²⁵) až na 5,96 g l⁻¹ pri expresnom systéme *E. coli* W3110 (cit.²⁶).

Transformácia limonénu, pri ktorej sa ako hlavný produkt tvoril perilylalkohol, bola popísaná u mikroorganizmov ako napr. *Aspergillus niger*, *A. cellulosa*, *Mortierella alpina*, *M. minutissima* alebo *Yarrowia lipolytica*²⁷.

Okrem biotransformačnej produkcie perilylalkoholu z limonénu je aj snaha o jeho *de novo* biosyntézu pomocou metabolického inžinierstva. Pomocou *E. coli* boli takto produkované oba jeho izoméry, (*R*)-(+)-perilylalkohol²⁸ aj (*S*)-(-)-perilylalkohol²⁹.

Produkcija kyseliny perilovej je dobre popísaná u *P. putida* GS1 (DSM 12264). Tvorbu kyseliny umožňuje prítomná degradačná dráha *p*-cyménu, aromatickej zlúčeniny štruktúrne podobnej limonénu. Prvé tri enzýmy tejto dráhy sú schopné transformovať aj limonén, pričom vzniká kyselina perilová, ktorú baktéria ďalej nie je schopná metabolizovať a akumuluje sa. Na efektívnejšiu biokonverziu limonénu *P. putida* GS1 vyžaduje ko-substrát, pričom ako najvhodnejší sa ukázal glycerol. Produkcia kyseliny perilovej bola popísaná v prítokovom reaktore s kontinuálnym prídavkom limonénu a glycerolu³⁰, v reaktore s integrovaným *in situ* odstraňovaním produktu na báze iónovej výmeny a prítokom substrátu²⁴, ako aj v kontinuálnom biofilmovom reaktore so segmentovaným tokom média³¹. Poslednou menovanou metódou sa dosiahla maximálna objemová produktivita reaktora až 34 g l⁻¹ d⁻¹.

Kyselina perilová bola produkovaná aj kvasinkou *Y. lipolytica*, pričom okrem limonénu bol použitý ako substrát aj pomarančový olej³².

3.2. Karveol a karvón

Oxidáciou uhlíka C₅ v molekule vzniká karveol a karvón. Karveol sa vyskytuje vo forme 4 stereoizomérov: (1*R*,5*R*)-karveol ((-)-*cis*-izomér), (1*S*,5*R*)-karveol ((-)-*trans*-izomér), (1*R*,5*S*)-karveol ((+)-*trans*-izomér) a (1*S*,5*S*)-karveol ((+)-*cis*-izomér); a karvón vo forme dvoch izomérov, (4*S*)- a (4*R*)-karvónu, označovaných aj (-)- a (+)-karvón. Obe tieto zlúčeniny sú využívané ako aromatické látky v kozmetike a potravinárstve. Tiež boli popísané ich antimikrobiálne vlastnosti, potenciálne aplikácie ako substrát v chemickej syntéze a v medicíne^{33–35}.

Karveol aj karvón sú častými produktmi biologickej

oxidácie limonénu, avšak vo väčšine prípadov sú len jednými z mnohých reakčných produktov. Je to v dôsledku nešpecifickej oxidácie katalyzovanej mikrobiálnymi monoxygenázami a hydroxylázami. Väčšiu regiošpecificitu vykazujú rastlinné enzýmy, napr. limonén-6-hydroxyláza z *Mentha* spp.³⁶. Problémom však je ich veľmi nízka aktívita a problematická aplikácia v priemyselnej praxi.

Regiošpecifická oxidácia limonénu na *trans*-karveol je katalyzovaná kuméndioxygenázou (EC 1.14.13.48) a bola popísaná u baktérii *Rhodococcus opacus*³⁷, viacerých kmeňov *Pseudomonas* sp.³⁸ a *Cellulosimicrobium cellulans*³⁹. Bunky *R. opacus* a *Pseudomonas* sp. boli schopné transformovať (+)-limonén na (+)-*trans*-karveol iba keď boli počas kultivácie indukované parami toluénu alebo naftalénu, zatiaľ čo u *C. cellulans* to bola prítomnosť etylbenzenu. Doteraz najvyššia popísaná produkcia *trans*-karveolu je popísaná práve u *C. cellulans*, a to 13,4 mM po 10 h biotransformácii³⁹.

Gén pre kuméndioxygenázu z *P. putida* bol identifikovaný a naklonovaný do expresného vektora *P. putida* P12 (cit.⁴⁰). Následne bola navrhnutá enzýmová kaskáda na produkciu chirálnych karvolaktónov z (+)-limonénu s potenciálnou aplikáciou vo výrobe biopolymérov⁴¹.

Van der Werf a spol.⁴² však popísali metabolickú dráhu degradácie karveolu u baktérie *Rhodococcus erythropolis* DCL14. Táto baktéria schopná rásť na limonéne začína degradáciu karveolu jeho dehydrogenáciou na karvón, ktorý karvóndehydrogenáza transformuje na dihydrokarvón. Baktéria je touto metabolickou dráhou schopná metabolizovať všetky 4 stereoizoméry karveolu⁴².

Pri biotransformácii zmesi (-)-*cis* a (-)-*trans*-karveolu za použitia buniek *R. erythropolis* DCL14 dochádza iba k transformácii *cis*-izoméru na (-)-karvón, zatiaľ čo *trans*-karveol zostáva v reakčnej zmesi nezreagovaný. Touto biotransformáciou je teda možné získať vzácnu čistú *trans*-formu karveolu⁴³.

3.3. Limonén-1,2-epoxid a limonén-1,2-diol

Degradačná dráha limonénu začínajúca epoxidáciou dvojitej väzby medzi uhlíkmi C₁-C₂ bola prvýkrát identifikovaná a popísaná u baktérii *R. erythropolis*. Reakcia je katalyzovaná FAD- a NADH- závislými monoxygenázami, pri čom vzniká limonén-1,2-epoxid. Ten je následne hydrolyzovaný na limonén-1,2-diol enzýmom limonén-1,2-epoxidhydrolázou. Limonén-1,2-diol je ďalej transformovaný na 1-hydroxy-2-oxolimonén nešpecifickými alkoholdehydrogenázami⁴⁴.

Pozornosť púta predovšetkým enzým limonén-1,2-epoxidhydroláza (LEH, EC 3.3.2.8), ktorý je niekoľkonásobne aktívnejší ako ostatné enzýmy tejto metabolickej dráhy, čím bráni v akumulácii potenciálne toxického epoxidu. Enzým bol purifikovaný a exprimovaný v *E. coli*. Svojou štruktúrou a reakčným mechanizmom sa líši od ostatných epoxidhydroláz a bol preto zaradený do samostatnej skupiny^{44,45}. LEH vykazuje voči svojmu prirodzenému substrátu vysokú stereoselektivitu, pričom je schopná hydrolyzovať všetky 4 stereoizoméry limonén-1,2-diolu⁴⁶. Vďaka svojej vysokej stereoselektivitě, úzkej

substrátovej špecifite, dobre popísanej štruktúre a reakčnému mechanizmu je LEH z *R. erythropolis* často používaná ako modelový enzým pre rôzne stratégie enzýmového inžinierstva^{47,48}.

Mikrobiálna transformácia limonénu až na limonén-1,2-diol je veľmi dobre charakterizovaná aj u viacerých druhov vláknitých húb. Molina a spol.⁴⁹ popísali biotransformáciu (–)-limonénu na limonén-1,2-diol pomocou vláknitej huby *Fusarium oxysporum*, pričom tvorba epoxidu nebola zaznamenaná, autori však predpokladajú, že táto huba metabolizuje limonén analogickým spôsobom ako baktérie *R. erythropolis*. Maximálna produkcia limonén-1,2-diolu bola 3,7 g l⁻¹ (cit.⁴⁹).

Z hľadiska aplikácie v praxi je zaujímavá transformácia (+)-limonénu na limonén-1,2-diol pomocou vláknitej huby *Colletotrichum nymphae*. Huby z rodu *Colletotrichum* sp. patria medzi fytopatogény a je predpoklad, že v porovnaní s inými mikroorganizmami sú odolné voči toxicite terpenov a vedia ich aj transformovať. Rozsiahlou optimalizáciou kultivačných a reakčných podmienok sa dosiahla maximálna koncentrácia produktu 7,1 g l⁻¹ resp. 7,8 g l⁻¹ po 72 h pri použití 20 g l⁻¹ (+)- alebo (–)-limonénu. Ako substrát mohol byť tiež použitý pomarančový olej^{50,21}.

Produkcia limonén-1,2-epoxidu bola popísaná pomocou enzýmového systému skladajúceho z imobilizovanej lipázy z *Candida antarctica* (frakcia B), karboxylovej kyseliny, peroxidu vodíka a substrátu (+)-limonénu. Optimalizáciou reakčných podmienok a prenesením procesu do 600ml reaktora s postupným prítokom roztoku H₂O₂ sa dosiahol maximálny výťažok limonén-1,2-epoxidu na úrovni 78 % po 60 min (cit.⁵¹).

Limonén-1,2-diol vykazuje inhibičný efekt voči prozápalovým aktivitám CD4+ a CD8+ T-lymfocytov a potenciálne protirakovinové vlastnosti. Môže však byť použitý aj ako atraktant pre hmyz alebo ochucovadlo v potravinárstve²¹. Limonén-1,2-epoxid má veľký aplikačný potenciál ako substrát pre chemickú syntézu a výrobu biopolymérov⁵¹.

3.4. α -Terpineol

Hydroxyláciou limonénu na dvojitej väzbe medzi uhlíkmi C₈-C₉ vzniká terciárny monoterenoid, α -terpineol. Tento alkohol je hlavnou zložkou viacerých rastlinných esenciálnych olejov, ako napr. majoránu (*Origanum majorana* L.), borovice prímorskej (*Pinus pinaster* Aiton) alebo šalvie muškátovej (*Salvia sclarea* L.). α -Terpineol existuje v dvoch enantiomérnych formách, (R)-(+)- α -terpineol a (S)-(–)- α -terpineol. (R)-(+)- α -terpineol sa vyznačuje príjemnou orgánovou vôňou, zatiaľ čo (S)-(–)- α -terpineol má jemnú vôňu ihličia. Pre svoju príjemnú vôňu je často používaný v kozmetike. Okrem toho má tiež viaceré zaujímavé biologické účinky. Vykazuje antihypertenzívny a antiproliferačný efekt na erytroleukemické bunky, má protizápalové vlastnosti, inhibuje produkciu superoxidov a viaceré štúdie popísali aj jeho protirakovinové účinky^{53–55}.

Mikrobiálna transformácia (+)-limonénu vedie k produkcii (R)-(+)- α -terpineolu, z (–)-limonénu naopak vzniká (S)-(–)- α -terpineol. Prvá biokonverzia limonénu na α -terpineol bola publikovaná už koncom 60. rokov minulého storočia pomocou *Cladosporium* sp., pričom od vtedy bola popísaná u mnohých mikroorganizmov, napr. *Fusarium oxysporum*, *Penicillium digitatum*, *Aspergillus* sp. alebo *Sphingobium* sp.⁵⁴.

Zaujímavá je predovšetkým biotransformácia limonénu pomocou *F. oxysporum* 152b, pri ktorej sa v aeróbných podmienkach tvorí limonén-1,2-diol⁴⁹, zatiaľ čo v systéme bez prístupu kyslíka vzniká α -terpineol⁵⁵.

Najlepšie výsledky sa dosiahli s baktériou *Sphingobium* sp. kultivovanej na limonéne ako jedinom zdroji uhlíka v médiu. Biotransformáciou (+)-limonénu v dvojfázovom systéme, kde ako organická fáza slúžil slnečnicový olej, vzniklo 130 g l⁻¹ (R)-(+)- α -terpineolu⁵⁶. Ďalšou optimalizáciou podmienok biotransformácie (pH, koncentrácia biomasy, teplota a miešanie) a použitím sójového oleja ako organickej fázy sa produkcia zvýšila až na takmer 240 g l⁻¹ (cit.⁵⁷). Enzým tejto vláknitej huby je navyše enantiošpecifický. Z (+)-limonénu sa tvoril (R)-(+)- α -terpineol v enantiomérnom nadbytku (ee) ≥ 99 %, zatiaľ čo z jeho (–)-izoméru vznikal majoritne (S)-(–)- α -terpineol, ktorého bolo približne 60 % (cit.⁵⁶).

V súčasnosti je α -terpineol produkovaný chemickou syntézou z α -pinénu, terpentínu alebo iných im podobných zlúčenín. Biotechnologická výroba je alternatívna možnosť produkcie, vhodná predovšetkým na produkciu čistých enantiomérov α -terpineolu.

3.5. Izopiperitenol a limonén-8,9-epoxid

Trans-izopiperitenol je derivát limonénu, ktorý vzniká hydroxyláciou na uhlíku C₃. V prírode vzniká ako medziprodukt pri biosyntéze (–)-mentolu v mäte (*Mentha* sp.). Z biotechnologického hľadiska je zaujímavý najmä ako substrát pre chemickú prípravu (–)-mentolu, aromatickej látky používanej v potravinárstve a parfumoch. Biotransformácia (+)-limonénu na *trans*-izopiperitenol v mikroorganizmoch bola dlho popísaná len u huby *Hormonema* sp. UOFS Y-0067. Maximálna produkcia bola 0,5 g l⁻¹, ale výsledky experimentov bolo ťažké reprodukovať⁵⁸. Nedávno boli popísané dve limonén-3-hydroxylázy z *Aureobasidium pullulans* a *Hormonema carpentarium*. Oba enzýmy boli naklonované do expresného vektora *Pichia pastoris* pre zvýšenie produkcie *trans*-izopiperitenolu, avšak jeho maximálna koncentrácia dosiahla hodnotu len 165 mg l⁻¹ (cit.⁵⁹).

Regiošpecifická epoxidácia limonénu na dvojitej väzbe medzi uhlíkmi C₈-C₉ bola popísaná len u baktérie *Xanthobacter* sp. kultivovanej na cyklohexáne. Túto reakciu katalyzuje cytochróm P-450 monooxygenáza. Z experimentov sa zistilo, že (+)-limonén ((4R)-izomér) je transformovaný na (4R)-limonén-8,9-epoxid, a z (–)-limonénu ((4S)-izomér) sa tvorí zmes izomérov (4S,8R)- a (4S,8S)-limonén-8,9-epoxidu v pomere 78:22. Optimalizáciou reakčných podmienok bolo možné získať 0,8 g l⁻¹

limonén-8,9-epoxidu, pri vyšších koncentráciách sa prejavila výrazná inhibícia produktom⁶⁰.

4. Záver

Terpény sú vďaka svojej unikátnej štruktúre dobrým východiskovým materiálom pre syntézu veľkého počtu špeciálnych chemikálií s využitím v potravinárskom, farmaceutickom, kozmetickom či materiálovom priemysle. (+)-Limonén je najviac zastúpený monocyklický monoterpén v prírode a jeho najväčším zdrojom je olej z citrusovej kôry. Výrobu limonénu a následne jeho biotransformáciu na oxidatívne deriváty možno považovať za biotechnologické procesy v súlade s hodnotami trvalo udržateľného rozvoja. Medzi výhody spojené s týmito bioprocesmi patrí použitie vedľajších produktov ako surovín, mierne reakčné podmienky, vysoká regio- a stereoselektivita a výroba produktov s pridanou hodnotou. Táto štúdia predstavuje nové metódy prípravy a perspektívne aplikácie menej známych látok, ktoré je možné pripraviť biotechnologickými transformáciami limonénu s využitím mikroorganizmov.

Práca bola finančne podporená prostriedkami z grantu VEGA č. 2/0130/20.

LITERATÚRA

- Lange B. M., v knihe: *Biotechnology of Isoprenoids* (Schrader J., Bohlmann J., ed.), kap. 11, str. 63. Springer International Publishing, Cham 2015.
- Sun C., Theodoropoulos C., Scrutton, N. S.: *Bioresour. Technol.* **300**, 122666 (2019).
- <https://www.ecfr.gov/cgi-bin/retrieveECFR?gp=1&SID=94972716e6befdccc1c3606666829f4e5&ty=HTML&h=L&mc=true&n=pt21.6.582&r=PART>, stiahnuté 19. 4. 2021.
- Vieira A. J., Baserra F. P., Souza M. C., Totti B. M., Rozza A. L.: *Chem.-Biol. Interact.* **283**, 97 (2018).
- Ciriminna R., Lomeli-Rodriguez M., Demma Cará P., Lopez-Sanchez J. A., Pagliaro M.: *Chem. Commun.* **50**, 15288 (2014).
- Erasto P., Viljoen A. M.: *Nat. Prod. Commun.* **3**, 1193 (2008).
- Kim Y. W. a 13 spoluautorov: *J. Toxicol. Environ. Health, Part B* **16**, 17 (2013).
- De Groot A.: *Dermatitis* **30**, 331 (2019).
- Nazaroff W. W., Weschler C. J.: *Atmos. Environ.* **38**, 2841 (2004).
- Hollingsworth R. G.: *J. Econ. Entomol.* **93**, 772 (2005).
- Cruz Moura I., Wunderlich G., Uhrig M. L., Couto A. S., Peres V. J., Katzin A. M., Kimura E. A.: *Antimicrob. Agents Chemother.* **45**, 2553 (2001).
- Pereira C. V., Silva J. M., Rodrigues L., Reis R. L., Paiva A., Duarte A. R. C., Matias A.: *Sci. Rep.* **9**, 14926 (2019).
- Calabrò P. S., Pontoni L., Porqueddu I., Greco R., Pirozzi F., Malpei F.: *Waste Manage. (Oxford, U. K.)* **48**, 440 (2016).
- Pourbafrani M., Forgács G., Sárvári Horváth I., Niklasson C., Taherzadeh M. J.: *Bioresour. Technol.* **101**, 4246 (2010).
- Jongedijk E., Cankar K., Buchhaupt M., Schrader J., Bouwmeester H., Beekwilder J.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **100**, 2927 (2016).
- Ren Y., Liu S., Jin G., Yang X., Zhou Y. J.: *Biotechnol. Adv.* **44**, 107628 (2020).
- Mikš-Krajník M., Zoglowek M., Buron-Moles G., Forster J., v knihe: *Consequences of Microbial Interactions with Hydrocarbons, Oils, and Lipids: Production of Fuels and Chemicals* (Lee S., ed.), kap. 12, str. 403, Springer, Cham 2017.
- Rolf J., Julsing M. K., Rosenthal K., Lütz S.: *Molecules* **25**, 1881 (2020).
- Korman T. P., Oppenorth P. H., Bowie J. U.: *Nat. Commun.* **8**, 15526 (2017).
- Felipe L. de O., Oliveira A. M., Bicas J. L.: *Trends Food Sci. Technol.* **62**, 141 (2017).
- Sales A., Moreira R. C., Pastore G. M., Bicas J. L.: *Process Biochem.* **78**, 8 (2019).
- De Carvalho C. C. R., da Fonseca M. M. R.: *Biotechnol. Adv.* **24**, 134 (2006).
- Chen T. C., da Fonseca C. O., Schönthal A. H.: *Am. J. Cancer Res.* **5**, 1580 (2015).
- Mirata M. A., Heerd D., Schrader J.: *Process Biochem.* **44**, 764 (2009).
- Van Beilen J. B., Holtackers R., Lüscher D., Bauer U., Witholt B., Duetz W. A.: *Appl. Environ. Microbiol.* **71**, 1737 (2005).
- Cornelissen S., Julsing M. K., Volmer J., Riechert O., Schmid A., Bühler B.: *Biotechnol. Bioeng.* **110**, 1282 (2013).
- Prieto G. A. S., Perea Y. A. V., Ortiz C. L.: *Biotechnol. Sect. Agropecu. Agroind.* **12**, 36 (2014).
- Sun C., Dong X., Zhang R., Xie C.: *BMC Biotechnol.* **21**, 3 (2021).
- Alonso-Gutierrez J., Chan R., Bath T. S., Addams P. D., Keasling J. D., Petzold C. J., Lee T. S.: *Metab. Eng.* **19**, 33 (2013).
- Mars A. E., Gorissen J. P. L., van den Beld I., Eggink G.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **56**, 101 (2001).
- Willrodt C., Hala B., Karthaus L., Rehdorf J., Buehler K., Schmid A.: *Biotechnol. Bioeng.* **114**, 281 (2016).
- Tappin M. R. R., Knopp F. M., Cardoso I. C., Santos R. T., Drummond B. S., Siani A. C., Bon E. P. S., Ferrara M. A.: *Green Sustainable Chem.* **7**, 172 (2017).
- De Carvalho C. C. R., da Fonseca M. M. R.: *Food Chem.* **95**, 413 (2006).
- Nesterkina M., Barbalat D., Konovalova I., Shishkina S., Atakay S., Salih B., Kravchenko I.: *Nat. Prod. Res.* **35**, 4978 (2020).
- De Cássia da Silveira e Sá N., Arande L. N., de Sousa D.: *Molecules* **18**, 1227 (2013).
- Lupien S., Karp F., Wildung M., Croteau R.: *Arch. Biochem. Biophys.* **368**, 181 (1999).

37. Duetz W. A., Fjällman A. H. M., Ren S., Jourdat C., Witholt B.: *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 2829 (2001).
38. Duetz W. A., Witholt B., Jourdat C.: *PCT Int. Appl. WO 02 38785*.
39. Wang Z., Lie F., Lim E., Li K., Li Z.: *Adv. Synth. Catal.* **351**, 1849 (2009).
40. Groeneveld M., van Beek H. L., Duetz W. A., Fraaije M. W.: *Tetrahedron* **72**, 7263 (2016).
41. Oberleitner N., Ressmann A. K., Bica K., Gärtner P., Fraaije M. W., Bornscheuer U. T., Rudroff F., Mihovilovic M. D.: *Green Chem.* **19**, 367 (2016).
42. Van der Werf M. J., Boot A. M.: *Microbiology* **146**, 1129 (2000).
43. De Carvalho C. C. C. R., van Keulen F., da Fonseca M. M. R.: *Tetrahedron: Asymmetry* **13**, 1637 (2002).
44. Van der Werf M. J., Swarts H. J., de Bont J. A. M.: *Appl. Environ. Microbiol.* **65**, 2092 (1999).
45. Arand M., Hallberg B. M., Zou J., Bergfors T., Oesch F., van der Werf M. J., de Bont J. A. M., Jones T. A., Mowbray S. L.: *EMBO J.* **22**, 2583 (2003).
46. Van der Werf M. J., Orru R. V. A., Overkamp K. M., Swarts H. J., Osprian I., Steinreiber A., de Bont J. A. M., Faber K.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **52**, 380 (1999).
47. Zheng H., Reetz T. M.: *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 15744 (2010).
48. Sun Z., Wu L., Bocola M., Chan H. C. S., Lonsdale R., Kong X.-D., Yuan S., Zhou J., Reetz T. M.: *J. Am. Chem. Soc.* **140**, 310 (2018).
49. Molina G., Bution M. L., Bicas J. L., Dolder M. A. H., Pastore G. M.: *Food Chem.* **174**, 606 (2015).
50. Sales A., Pastore G. M., Bicas J. L.: *Process Biochem.* **86**, 25 (2019).
51. Melchioris M., Vieira T. Y., Pereira L. P. S., Carcioffi B. A. M., de Araújo P. H. H., de Oliveira D., Sayer C.: *Ind. Eng. Chem. Res.* **58**, 13918 (2019).
52. Parrino F., Fidalgo A., Palmisano L., Ilharco L. M., Ciriminna R.: *ACS Omega* **3**, 4884 (2018).
53. Khaleel C., Tabanca N., Buchbauer G.: *Open Chem.* **16**, 349 (2018).
54. Sales A., Felipe L. de O., Bicas J. L.: *Food Bioprocess Technol.* **13**, 1261 (2020).
55. Bicas J. L., Barros F. F. C., Wagner R., Teixeira Godoy H., Pastore G. M.: *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **35**, 1061 (2008).
56. Bicas J. L., Fontanille P., Pastore G. M., Larroche C.: *Process Biochem.* **45**, 481 (2010).
57. Molina G., Pessôa M. G., Bicas J. L., Fontanille P., Larroche C., Pastore G. M.: *Bioresour. Technol.* **294**, 122180 (2019).
58. Van Dyk M. S., van Rensburg E., Moleleki N.: *Biotechnol. Lett.* **20**, 431 (1998).
59. Schempp F. M., Strobel M., Etschmann E., Bierwirth E., Panten J., Schewe H., Schrader J., Buchhaupt M.: *Appl. Environ. Microbiol.* **87**, e02873 (2021).
60. Van der Werf M. J., Keizer P. M., van der Schaft P. H.: *J. Biotechnol.* **84**, 133 (2000).
61. Filipsson A., Bard J., Karlsson S., World Health Organization, International Programme on Chemical Safety. (1998), <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42039>, stiahnuté 20. 12. 2021.
62. <https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical/details/DTXSID1020778>, stiahnuté 20. 12. 2021.
63. <https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical/details/DTXSID6047078>, stiahnuté 20. 12. 2021.
64. <https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical/details/DTXSID2029612>, stiahnuté 20. 12. 2021.
65. Massaldi H. A., King C. J.: *Chem. Eng. Data* **18**, 393 (1973).

K. Kaniaková, H. Hronská, D. Šilhárová, and M. Rosenberg (*Institute of Biotechnology, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Bratislava, Slovak Republic*): **Limonene and Its Oxidative Derivates: Properties, Applications and Biotechnological Production**

In this review, we collected and presented evidence from the scientific literature regarding the biotechnological production and applications of limonene and its oxidative derivatives in various fields such as food, pharmaceutical, cosmetic or polymer industries. Limonene biotransformations may be regarded as biotechnological processes aligned to sustainable development. Advantages associated with these bioprocesses include the use of by-products as raw materials, mild reaction conditions, high regio- and stereoselectivity and the production of value-added products. The biological activities of limonene and its oxidative derivatives, such as carveol, carveone, limonene-1,2-diol, α -terpineol, or perillyl alcohol, suggest that the terpene biotechnology is becoming a promising and prosperous science.

Keywords: limonene, oxidative derivatives, applications, biotransformation, biological activity

● Kaniaková K., Hronská H., Šilhárová D., Rosenberg M.: *Chem. Listy* **116**, 301–307 (2022).

● <https://doi.org/10.54779/ch120220301>

Acknowledgements

This work was supported by grant VEGA no. 2/0130/20.

BAKTERIÁLNÍ NANOCELULOSA A JEJÍ MEDICÍNSKÉ VYUŽITÍ

ANNA KUTOVÁ a VÁCLAV ŠVORČÍK

Ústav inženýrství pevných látek, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 3, 166 28 Praha
kutovaa@vscht.cz

Došlo 24.1.22, přijato 10.2.22.

Klíčová slova: nanocelulosa, bakteriální nanocelulosa, bakteriální kultivace, medicínské využití, krytí ran

• <https://doi.org/10.54779/chl20220308>

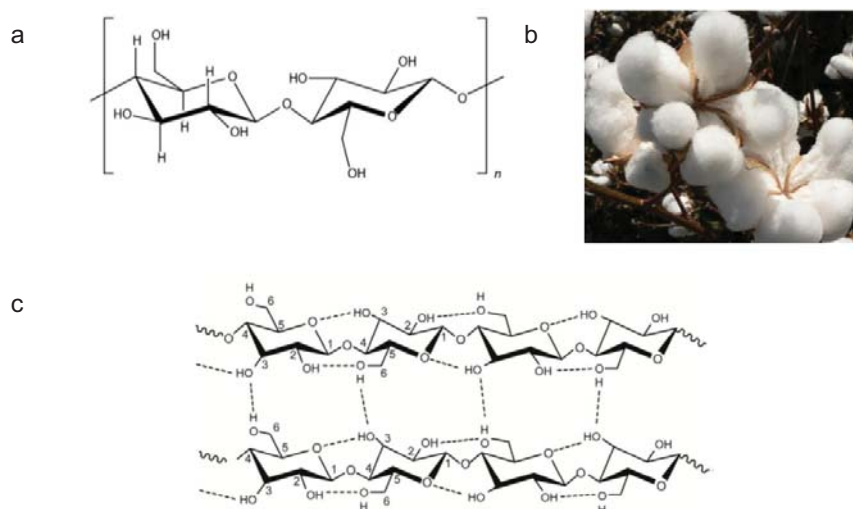
Obsah

1. Úvod
2. Bakteriální nanocelulosa
3. Bakteriální nanocelulosa v průmyslu
4. Medicínské využití bakteriální nanocelulosity
5. Bakteriální nanocelulosa v oblasti hojení ran
6. Závěr

1. Úvod

Celulosa je člověku známá již od „nepaměti“. Patří mezi nejrozšířenější polymery na Zemi, protože společně s hemicelulosou (rozvětvený polysacharid s nízkým stupněm polymerace tvořený různými monosacharidy) a ligninem (zesíťovaný amorfní kopolymer tří odlišných fenylpropanoidů) tvoří lignocelulosu – základní stavební složku všech rostlin^{1,2}. První, kdo celulosu objevil, izoloval z rostlinné tkáně pomocí kyselin a amoniaku a následně i potvrdil její sumární vzorec jako $C_6H_{10}O_5$, byl francouzský chemik Anselme Payen v roce 1938. V současné době již víme, že celulosa je přírodní polymer D-glukosy, jejíž molekuly jsou do polymerního řetězce propojeny β -(1→4) glykosidovými vazbami³ (obr. 1a). Celulosa je pevný, vláknitý, semikrystalický a ve vodě a většině organických rozpouštědel nerozpustný polymer, který díky své udržitelnosti, biodegradabilitě a biokompatibilitě našel uplatnění v mnoha odvětvích lidské činnosti, jako je např. papírenský a módní průmysl nebo jako obvažový materiál v lékařství⁴.

Celulosu (obr. 1a) lze získat z několika zdrojů, z nichž nejčastějším jsou rostliny: (a) jejich dřevnatá část, která může obsahovat až 50 % čisté celulosy; (b) lodyhy, listy nebo semena. Největším producentem celulosy jsou vlákna bavlníku, která obsahují až 90 % procent čisté celulosy (obr. 1b). Vlákna této „rostlinné“ celulosy se splétají z jednotlivých mikrofibrilů, což jsou krystalické shluky lineárních řetězců polymeru spojené mezimolekulárními a intramolekulárními vodíkovými můstky, jejichž velikost



Obr. 1. (a) Vzorec celulosy, (b) foto bavlny na bavlníku a (c) struktura celulosy s naznačenými intramolekulárními a intermolekulárními vodíkovými vazbami⁶⁴ (Barevná verze obrázku je dostupná na webových stránkách časopisu Chem. listy).

a tvar se liší na základě jejich původu⁵ (obr. 1c). Rozmělněním těchto celulosových vláken můžeme získat jednotlivé mikrofibry, které lze považovat za nanovláknennou celulosu¹.

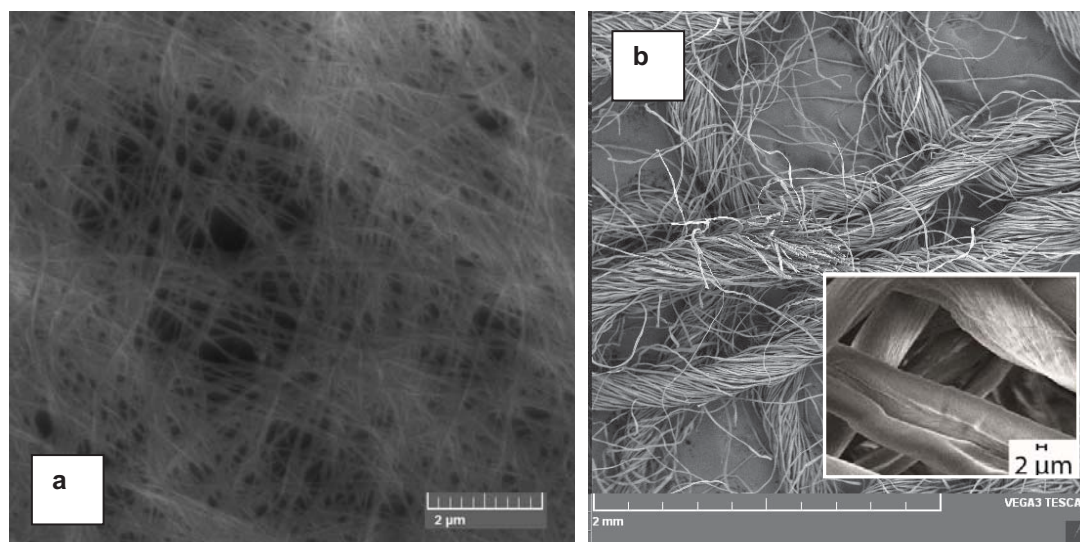
Nanocelulosa (NC) je celulosa, která alespoň „v jednom rozměru“ (např. průměr vlákna) nepřesahuje 100 nm. V ostatních rozměrech může být vlákno mnohonásobně delší (i v řádech mm). Vzhledem k téměř stonásobně menšímu průměru vláken a z toho vyplývajícímu většímu povrchu a porozitě (obr. 2a) má NC oproti „rostlinné“ celuloze (obr. 2b) na povrchu větší koncentraci volně dostupných a lehce modifikovatelných hydroxylových skupin. Ty pak mohou tvořit vodíkové můstky, čímž dojde k zesílení a zároveň zpevnění celé nanostruktury. Proto má NC lepší mechanické vlastnosti, je krystaličtější, má vyšší nasákavost pro vodu a zachovává si pro celulosu typickou velmi dobrou biokompatibilitu a velmi nízkou toxicitu^{1,6}. Celulosa nanovláknena obsahuje nanokrystaly celulosy, tj. tyčinkovité nanoútvary o délce do 500 nm. NC lze získávat metodou (a) „top-down“, tj. mechanickým, ultrazvukovým nebo enzymovým rozmělněním, vysokotlakou homogenizací, kyselou hydrolyzou nebo např. pomocí elektrospinningu⁷; nebo (b) „bottom-up“ metodou, která spočívá v syntéze NC z jednotlivých molekul glukosy. Touto cestou umí NC syntetizovat některé druhy řas (*Valonia*), plísní, živočichů (strunatci) nebo bakterií⁸. Tento typ celulosy je často označován jako mikrobiální nanocelulosa.

2. Bakteriální nanocelulosa

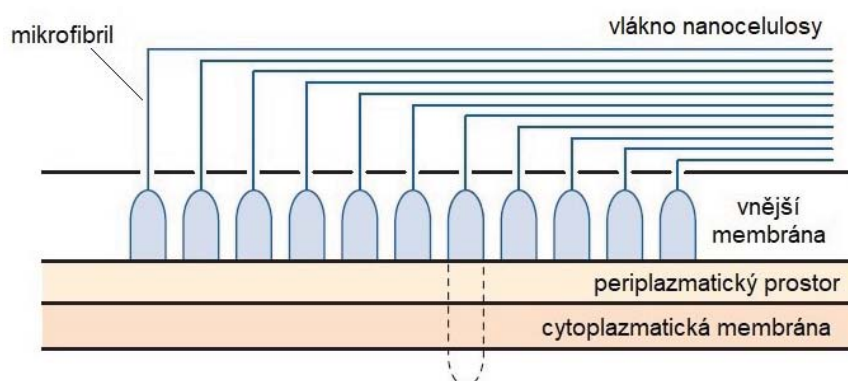
Mikrobiální nanocelulosu, která je produkována bakteriemi, označujeme jako bakteriální (BNC). Je produkována gramnegativními aerobními octovými bakteriemi

tyčinkového tvaru, které jsou velmi odolné vůči „kyselému pH“. Tyto bakterie produkují nanocelulosu na hladině roztoku, ve kterém žijí, díky čemuž se udržují v místě s vysokou koncentrací kyslíku a živin, kde nehrozí jejich nedostatek. Produkovaná BNC je také chráněna před vyschnutím, UV zářením nebo nežádoucími patogeny^{9,10}. Oproti NC získané z rostlin je BNC produkovaná z živného média vysoce čistá a není potřeba ji promývat od ostatních složek lignocelulosy¹.

BNC je známa již dlouho jako „mateční houba“ (SCOBY – symbiotická kultura bakterií a kvasinek), která fermentuje slazený čaj za vzniku nápoje kombucha, který pro své léčebné účely pili lidé už ve starověké Číně¹¹. První, kdo tento materiál studoval, popsal a prokázal, že se jedná o celulosu, byl A. J. Brown v roce 1886. Ten pěstoval ve zředěném červeném víně okyseleném běžným octem bakterie rodu *Bacterium aceti*, které izoloval z fermentovaného piva. BNC popsal jako průhledný, gelovitý, houževnatý materiál na hladině kultivačního roztoku, který může dosahovat tloušťky až 25 mm (cit.¹²). Rod *Bacterium* byl následně přejmenován na *Acetobacter*, *Gluconacetobacter*. Dnes ho známe pod názvem *Komagataeibacter* a považujeme ho za nejlepšího producenta BNC. V současné době jsou ale známy i jiné rody bakterií, které produkují BNC, např.: *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Alcaligenes*, *Azobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodobacter*, *Salmonella* nebo *Sarcina* – jediný grampozitivní producent BNC (cit.^{13,14}). Tyto bakterie se v přírodě nacházejí tam, kde dochází k fermentaci rostlinných cukrů nebo nižších uhlohydrátů, tj. na poškozeném ovoci, v ovocné šťávě, na rostlinách a jejich kořenech nebo v alkoholických nápojích. Použitím různých bakteriálních rodů se může připravená BNC lišit ve tvaru, délce nebo tloušťce vláken nebo např. v podílu krystalické fáze^{13,14}.



Obr. 2. SEM snímky: (a) bakteriální nanocelulosity (snímek autorky), (b) tkané celulosy (včetně zvětšeného ve výřezu)³⁰.



Obr. 3. Schématické znázornění syntézy celulosových řetězců a jejich následné splétání do nanocelulosových mikrofibrilů a vláken na povrchu bakterie. (Barevná verze obrázku je dostupná na webových stránkách časopisu Chem. listy).

Produkce BNC je extracelulární proces, který probíhá mezi cytoplasmatickou a vnější membránou za účasti komplexů celulosynthas (UDP-glukosa:β-D-glukan glukosyltransferasa, EC 2.4.1.12), které se nacházejí v pórech na povrchu bakterie. Ty tvoří glukonové (glukosové) řetězce, které se při průchodu póry na povrch bakterie sprádají do mikrofibrilů. Ty se pak v kultivačním médiu samovolně splétají do nanocelulosových vláken (obr. 3). Tato vlákna pak tvoří krystalickou 3D nanostrukturu BNC, která je zpevněna velkým množstvím vodíkových můstků¹⁰. Jedna bakteriální buňka je schopna spojit až 200 000 molekul glukosy za sekundu v celulosový řetězec¹⁵.

Řada vědců se zabývala studiem růstu BNC v laboratorních podmínkách. Množství vyprodukované BNC, stejně jako některé její vlastnosti (např. krystalinita nebo porozita) mohou být závislé na volbě bakteriálního druhu, složení kultivačního média nebo podmínkách kulti-

vace samotné. Např. Zeng a spol.¹⁶ studovali růst BNC užitím rodu *Komagataeibacter*, druhů *xylinum* a *europeus* a zjistili, že *K. xylinum* produkoval BNC rychleji a zároveň měl tento materiál daleko vyšší hustotu a z ní vyplývající menší porozitu. Velké množství studií se zabývá složením média. Standardně se používá médium, které v roce 1954 publikovali S. Hestrin a M. Schramm¹⁷. To se skládá z 2 hm.% glukosy, 0,5 hm.% peptonu, 0,5 hm.% kvasničného extraktu, 0,27 hm.% hydrogenforforečnanu sodného a 0,115 hm.% kyseliny citronové. Bakterie však produkují BNC i z jiných zdrojů uhlíku – např. sacharosy (kterou několik studií popsalo jako nejlepší zdroj uhlíku pro růst BNC), dále laktosy, maltosy, mannitolu, fruktosy, mannosy nebo glycerolu^{15,18,19}. Většina studií potvrdila, že BNC nejlépe a nejrychleji roste v rozmezí pH 4 až 7 a při teplotách od 28 od 30 °C (viz¹⁰).



Obr. 4. Foto: Příprava BNC: a) statická kultivace; b) kultivace se třepáním (snímky autorky). (Barevná verze obrázku je dostupná na webových stránkách časopisu Chem. listy).

Je známo, že bakterie produkují BNC na hladině kultivačního média tam, kde je dostatek vzduchu pro jejich buněčné pochody. Proto při statické kultivaci dostáváme hydrogel připomínající „nevysušenou celulosu“ (angl. never-dried cellulose) (obr. 4a). Pokud ovšem kultivace probíhá při současném třepání, BNC je formována do malých nepravidelných kuliček, které jsou rozprostřené v celém objemu média¹⁰ (obr. 4b).

Tato „nevysušená celulosu“ (obr. 5a) obsahuje až 90 % vody, což může být pro některé aplikace nežádoucí, a proto je potřeba ji před dalším užitím vysušit. To je možné několika způsoby: (a) prosté vysušení na vzduchu, (b) vysušení za zvýšené teploty v sušárně, (c) superkritickým sušením nebo (d) lyofilizací^{9,20}. Vasconcellos a Farinas²¹ sušili BNC lyofilizací a v sušárně a zjistili, že lyofilizované vzorky si zachovávají svou nanostrukturu, a tak jsou tlustší a poréznější. V naší práci²² jsme se zase zabývali sušením na vzduchu a lyofilizací (obr. 5b, c). Kromě porozity jsme se zabývali ještě drsností a smáčivostí a zjistili jsme, že poréznější lyofilizované vzorky mají menší povrchovou drsnost a jsou více hydrofilní.

3. Bakteriální nanocelulosa v průmyslu

Bakteriální nanocelulosa a její kompozity jsou využívány i v různých průmyslových odvětvích. Např. společnost SONY na začátku 90. let produkovala sluchátka typu MDR-R10, která měla membránu z BNC (cit.^{23,24}). Řada vědců a módních návrhářů se zabývá použitím BNC v textilním průmyslu, kde je limitující ztráta její pružnosti po vysušení nebo vysoká sorpce vody. Tyto problémy se dají vyřešit přidávkou jiných přírodních vláken nebo změkčovadel. Dostáváme pak materiál podobný kůži, který je biodegradovatelný a pevný. Tímto se zabývá např. britská návrhářka Suzzane Lee ve svém projektu Biocouture, indická značka Malai a řada dalších²⁵.

Dále se BNC používá i v potravinářství. Jak bylo zmíněno výše, již ve starověké Číně se pro své léčivé účinky pil nápoj kombucha, který je populární i dnes. Tato mateční houba fermentuje slazený čaj v lehce nakyslý

perlivý nápoj, který řada lidí pije pro jeho léčivé a probiotické účinky¹¹. Z Filipín pak pochází gelovitý sladký dezert Nata – fermentovaný produkt bakterií. Podle kultivačního média můžeme mít buď Nata de coco, které pochází z kokosové vody, nebo Nata de pina, které pochází z ananasové vody. Nabízí se i využití BNC jako přídatné látky v potravinářství. Zde byla BNC testována jako zahušťovadlo, stabilizátor, želírující nebo zvlhčující látka. Výhodou aplikace BNC je, že ji lze použít v širokém rozmezí teplot a pH, a dokonce i při velmi nízkých koncentracích a přitom nedochází k ovlivnění chuti²⁶.

Bakteriální nanocelulosa je v současné době studována i jako náhrada jednorázových plastů, a to pro svou biodegradabilitu, díky které je považována za ekologičtější a udržitelnější materiál než plasty petrochemického původu. Kompozitní materiály na bázi BNC a polylaktidu byly studovány jako potravinářské obaly. Výhodou je vysoká propustnost BNC pro plyny a vodu a současně přirozená ochrana zabaleného obsahu před UV zářením. BNC byla také použita při výrobě papíru, kde zvyšuje jeho pevnost, lesk a snižuje jeho gramáž²⁷. Byla též studována možnost přípravy filtračních membrán do čističek vzduchu ve směsi se sójovým proteinovým izolátem, který obsahuje velké množství funkčních skupin, na které se mohou nečistoty vázat²⁸. Dále byla BNC použita v kosmetice pro výrobu pletěových masek a peelingů²⁹.

4. Medicínské využití bakteriální nanocelulosity

V medicínských aplikacích je celulosu a její deriváty používána již dlouhá léta proto, že je biokompatibilní, netoxická a nepyrogeenní. Hojně je používána např. ve farmacii při lékových formulacích jako plnivo, pojivo nebo potahový materiál. Filtry z acetátu celulosy bývají použity pro krevní dialýzu. Oxidovaná celulosu se zase používá k hemostáze (zástavě krvácení) při operacích. Dále se celulosu významně používá v oblasti kožního krytí a hojení ran, kde je bavlněná gáza používána jako mechanická ochrana poškozené tkáně³⁰. Bakteriální nanocelulosu si zachovává všechny tyto výjimečné vlastnosti „běžné rost-



Obr. 5. Foto: a) „nevysušená“ BNC čerstvě vytažená z kultivačního média; b) BNC sušená na vzduchu; c) lyofilizovaná BNC (snímky autorky). (Barevná verze obrázku je dostupná na webových stránkách časopisu Chem. listy).

linné“ celulosy, a tak je její použití v medicínských aplikacích poslední dobou pozorně studováno. Mezi tyto aplikace patří např. medicínská diagnostika, různé tkáňové náhrady a štěpy, nosiče léčiv a zejména oblast hojení ran a kožního krytí, kterému bude v tomto referátu věnována samostatná část³¹ (obr. 6).

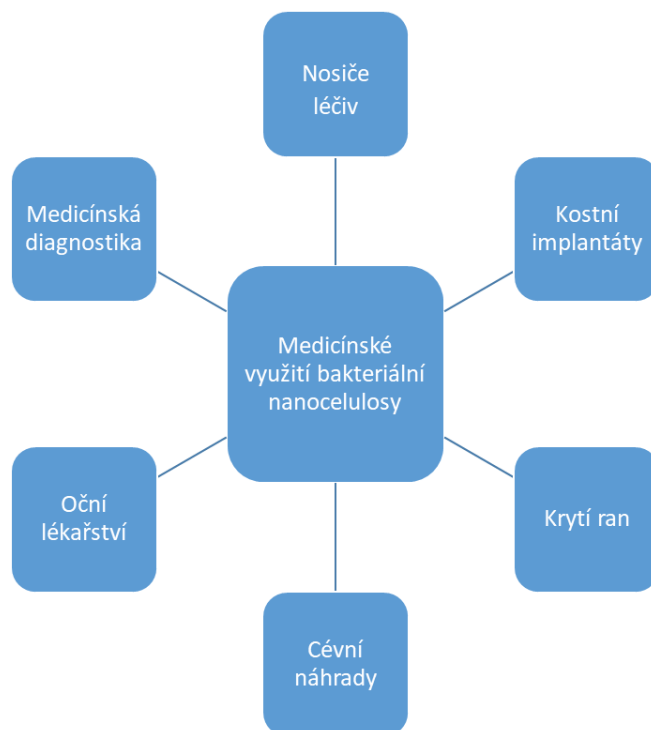
Vzhledem k tomu, že se BNC chová jako vysoce hydrofilní hydrogel, který má porézní nanostrukturu s řadou pórů schopnou absorbovat velké množství vody, nabízí se užití BNC jako nosiče léčivé látky s postupným uvolňováním. Tímto způsobem byla např. připravena BNC s lokálním anestetikem lidokainem³² nebo s diklofenakem³³ a ibuprofenem³² – nesteroidními protizánětlivými léčivy. Další skupinou léčiv jsou protirakovinné látky, kde užití BNC jako jejich nosiče může výrazně snížit množství nežádoucích účinků tím, že je léčivá látka dodávána přímo k nádorovým buňkám a neovlivňuje zdravé buňky. Takto byly např. připraveny nosiče s pozvolným uvolňováním na bázi BNC pro doxorubicin³⁴ nebo α -mangostin³⁵.

Dále byla BNC použita ve tkáňovém inženýrství jako náhrada cévní a kostní tkáně nebo např. v oftalmologii. Wang a spol.³⁶ připravili kompozitní materiál BNC-polyvinylalkohol, který by mohl v budoucnu sloužit jako náhrada oční čočky. Gonçalves a spol.³⁷ zase zavedením acetylové skupiny vytvořili materiál s hydrofobnějším povrchem. Do nanostruktury připraveného materiálu následně nechali adsorbovat chitosan nebo methylcelulosu, což na jeho povrch zavedlo funkční skupiny, které zvýšily sorpci signálních proteinů důležitých pro růst buněk. Takto

modifikované materiály pak podporovaly růst pigmentových buněk sítnice. Dále byl připraven kompozitní materiál BNC-pHEMA (polyhydroxyethyl-methakrylát), který by mohl být použit pro výrobu kontaktních čoček³⁸.

Vzhledem k tomu, že je BNC přirozeně propustná pro vodu, různé plyny, ionty a malé molekuly, nabízí se její využití jako umělé krevní cévy. BNC je schopna tvořit stabilní trubičky o průměru okolo 6 mm, což je ideální průměr cév, které mohou být dlouhé až 25 cm. Díky svým vynikajícím mechanickým vlastnostem je „céva“ schopna udržet chirurgické stehy a zároveň krevní tlak⁹. Wiperman a spol.³⁹ připravili trubičky, které implantovali do prasat. Po třech měsících proběhla analýza štěpů, na kterých nebyly nalezeny žádné známky zánětu a naopak byly zevnitř pokryty epitelem, který snižuje riziko vzniku krevní trombózy. Podobně Klemm a spol.⁴⁰ připravili umělé cévy, které úspěšně testovali na krysách. Z ostatních měkkých tkání byla BNC použita jako náhrada tvrdých mozkových plen (dura mater) ve studii na králících⁴¹.

Bakteriální nanocelulosu by bylo také možné použít v oblasti hojení a náhrady kostní tkáně. Ta se skládá z mikrokystalů anorganických solí, fosforečnanu vápenatého a hydroxyapatitu (HAp), a z organické složky, která je z velké části tvořena vlákny kolagenu³¹. Vzhledem k tomu, že BNC je morfologicky podobná kolagenu⁹, nabízí se využití kompozitního materiálu BNC-HAp jako možného substrátu pro růst kožních buněk, který by bylo možné využít k léčbě poraněných kostí. Pro tyto aplikace nemůže být použit kolagen samotný kvůli své rychlé degradaci, složité sterilizaci a špatným mechanickým vlastnos-



Obr. 6. Znárodnění možného využití bakteriální nanocelulosity v medicínských aplikacích. (Barevná verze obrázku je dostupná na webových stránkách časopisu Chem. listy).

tem. Vzhledem k tomu, že lidský organismus není schopný rozložit BNC, hodí se takto připravený kompozit spíše na dlouhodobou podporu poraněné kostní tkáně. Na druhou stranu, je občas vhodné mít podpůrný materiál, který by se v těle rozkládal a byl postupně nahrazován kostní tkání pacienta⁴². Toho by bylo možné užitím celulas – enzymů, které jsou schopny rozštěpit nanocelulosový řetězec na jednotlivé molekuly glukosy⁴³.

5. Bakteriální nanocelulosa v oblasti hojení ran

Jak již bylo zmíněno výše, BNC je v medicínských aplikacích v současné době používána zejména jako kožní krytí. Zde se využívá její podobnosti s měkkou tkání a kolagenem, propustnosti pro plyny a vysoké hydrofilicity. BNC pak udržuje ránu dostatečně hydratovanou, je schopna odvádět exsudát (extracelulární výpotek) a udržuje v ráně stabilní pH a teplotu. Tímto způsobem přispívá k proliferaci (růstu) buněk a regeneraci tkáně bez nutnosti každodenního převazu. Díky své nanostruktúře také pozitivně působí na nervová zakončení a tím tlumí bolest^{31,44,45}. První, kdo použili BNC jako kožní krytí, byla brazilská společnost BioFill^{45,46} a americká společnost Johnson & Johnson⁴⁷ na přelomu 80. a 90. let minulého století. V současné době existuje řada komerčně dostupných produktů, např. Bionext[®] (cit.⁴⁸), XCell[®] (cit.⁴⁹), Nexfill[®], Nanoderm[™] (cit.⁵⁰) nebo Dermafill[®] (cit.⁵¹). Avšak ani toto kožní krytí není dokonalé, a tak se nadále pracuje na jeho optimalizaci (např. vytvoření materiálu s antimikrobiální nebo antibakteriální aktivitou).

Jednou z možností, jak dosáhnout antibakteriální aktivity, je dotování BNC vhodným antibiotikem. Molekula glukosy v celulosovém řetězci má tři volné hydroxylové skupiny, které mohou být jednoduše modifikovány, a tak mohou být do struktury zavedeny nové funkční skupiny⁵². Takto byla např. připravena BNC s amoxicilinem⁵³. Další možností je prostá sorpce, která spočívá v ponoření BNC do roztoku antibiotika (nebo jiné látky), které se do nanosítě zabuduje pomocí difuze. Tento proces je ale velmi zdoluhavý, někdy trvá až 48 hodin, aby se dosáhlo požadované koncentrace látky v BNC, což může být v případě některých léčivých látek značně limitující. Další nevýhodou je nehomogenita rozložení léčivé látky v nanocelulosevé síti. Tímto způsobem byla připravena BNC dotovaná např. vankomycinem, ciprofloxacinem⁵⁴, tetracyklinem⁵⁵, amikacinem nebo ceftriaxonem⁵⁶.

Je známo, že bakterie si na antibiotika vytváří rezistenci, což má za následek snížení jejich účinnosti. Proto se často používají jiné antibakteriální látky, např. některé kovové nanočástice, zejména stříbrné^{57–62}. Přesný mechanismus účinku Ag nanočástic (koloidních roztoků Ag) zatím není přesně znám. Může se jednat např. o ovlivňování funkčních skupin (např. thiolů⁶³ nebo aminů) některých enzymů, což vede k jejich inaktivaci, nebo přímo DNA, která se pak není schopná dále replikovat⁶⁴. Kompozitní materiál BNC a Ag nanočástic byl vytvořen ponořením BNC do roztoku AgNO₃ a následnou redukcí Ag⁺ kationtů pomocí tetrahydridoboritanu sodného^{56,65}. Kromě Ag na-

nočástic byly použity i nanočástice jiných kovů, např. zlaté nebo měděné, případně oxidů kovů jako např. TiO₂, ZnO, Fe₃O₄ (viz⁵²).

Dalším poměrně často používaným materiálem s přirozeně antibakteriálními účinky je chitosan. Ten se připravuje deacetylací chitinu získaného ze schráněk koryšů. Kromě jeho antibakteriálních účinků zastavuje chitosan i růst kvasinek a plísní, je netoxický a biodegradabilní. Chitosan dokonce napomáhá hojení ran tím, že zvyšuje proliferaci a následnou migraci fibroblastů, podporuje tvorbu kolagenu typu III nebo pomáhá odstranit zánětlivé buňky. Přípravou kompozitních materiálů BNC-chitosan s antibakteriálním účinkem pro použití v oblasti hojení ran se zabývala řada vědců. Např. Lin a spol.⁶⁶ připravili tento kompozit ponořením lyofilizované BNC do roztoku chitosanu a následnou lyofilizací. Připravené kompozity vykazovaly antibakteriální účinky jak vůči gramnegativním bakteriím *Escherichia coli*, tak vůči grampozitivním *Staphylococcus aureus*. Pozorovali též, že materiál obsahující chitosan měl vyšší pevnost, ale nižší nasákavost a oproti čisté BNC méně podporoval prvotní přichycení L929 fibroblastů. Na druhou stranu, *in vivo* testy provedené na kryších ukázaly, že rány, které byly ošetřeny BNC s obsahem chitosanu, se hojily rychleji. Další, kdo kompozitní materiál BNC-chitosan vytvořili, jsou např. Cai a spol.⁶⁷ nebo Kim a spol.⁶⁸. Kromě chitosanu byla BNC za účelem zvýšení antibakteriálních účinků dotována např. kurkuminem⁶⁹, benzalkonium-chloridem⁷⁰, glycidiltrimethylammonium chloridem⁷¹, nebo polyhexamethylen biguanidem (PHMB)⁷².

6. Závěr

V této práci byla představena bakteriální nanocelulosa, tj. materiál, který je v současné době v popředí zájmu díky své biodegradabilitě, udržitelnosti, nízké ceně a jednoduché přípravě. Oproti „obyčejné“ celuloze má díky své nanostruktúře BNC lepší mechanické vlastnosti a vyšší krystalinitu a tak poskytuje daleko širší možnosti potenciálního využití. Nejprve byl popsán způsob její přípravy, možnosti ovlivnění jejího růstu v laboratorních podmínkách a její následné zpracování. Dále bylo nastíněno její možné využití v průmyslu, v oblasti módy nebo potravinářských aditiv. V poslední části práce byla představena BNC pro potenciální medicínské využití. Vzhledem ke své nanostruktúře s vysokou porozitou by BNC mohla být použita v oblasti nosičů léčiv s pozvolným uvolňováním zejména pro některé protizánětlivé nebo protirakovinné látky anebo jako náhrada krevních cév. Díky tomu, že připomíná hydrogel, byla studována i možnost jejího využití v oblasti očního lékařství. Pro svou strukturální podobnost s kolagenem byla též studována jako náhrada kostní tkáně. V současné době je BNC využívána zejména v oblasti kožního krytí, kde již existují komerčně dostupné produkty. Zde je její nevýhodou, že nevykazují žádné antimikrobiální účinky, a proto dochází k jejímu dotování antimikrobiálními látkami. Tato práce naznačuje, že BNC má potenciál být v budoucnu použita v širokém spektru

medicínských aplikací, které by mohly výrazně pomoci k hojení poraněné tkáně nebo k samotnému podávání léčivých látek.

Tato práce vznikla za finanční podpory grantů GAČR č. 20-01641S a v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt č. A2_FCHT_2021_016.

LITERATURA

- Phanthong P., Reubroycharoen P., Hao X., Xu G., Abudula A., Guan G.: *Carbon Resour. Convers.* 1, 32 (2018).
- Chen H., v knize: *Biotechnology of Lignocellulose*, kap. 2, Springe, Dordrecht 2014.
- Prabhu D. M., Li W.-J., v knize: *Cellulose and Cellulose Derivatives* (Mondal, I. H., ed.), kap. 1, Nova Science Publisher, New York 2015.
- Pišlová M., Kolářová K., Vosmanská V., Kvítek O., Švorčík V.: *Chem. Listy* 109, 942 (2015).
- Dufresne A., v knize: *Nanocellulose: From Nature to High Performance Tailored Materials* (bez editora), kap. 1, De Gruyter, Inc., Berlin 2012.
- Klemm D., Schumann D., Kramer F., Heßler N., Koth D., Barno S.: *Macromol. Symp.* 280, 60 (2009).
- Dufresne A., v knize: *Nanocellulose: From Nature to High Performance Tailored Materials* (bez editora), kap. 2, De Gruyter, Inc., Berlin 2012.
- Jorfi M., Foster E. J.: *J. Appl. Polym. Sci.* 132, 41719 (2015).
- Klemm D., Kramer F., Moritz S., Lindstroem T., Ankerfors M., Gray D., Dorris A.: *Angew. Chem., Int. Ed.* 50, 5438 (2011).
- Dufresne A., v knize: *Nanocellulose: From Nature to High Performance Tailored Materials* (bez editora), kap. 4, De Gruyter, Inc., Berlin 2012.
- Jayabalan R., Malbaša R. V., Lončar E. S., Vitas J. S., Sathishkumar M.: *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 13, 538 (2014).
- Brown A. J.: *J. Chem. Soc., Trans.* 49, 432 (1886).
- Jonas R., Farah L. F.: *Polym. Degrad. Stab.* 59, 101 (1998).
- Hungund B., Gupta S.: *World J. Microbiol. Biotechnol.* 26, 1823 (2010).
- Mohnite B. V., Patil S. V., v knize: *Cellulose and Cellulose Derivatives* (Mondal, I. H., ed.), kap. 3, Nova Science Publisher, New York 2015.
- Zeng M., Laromaine A., Roig A.: *Cellulose* 21, 4455 (2014).
- Hestrin S., Schramm M.: *Biochem. J.* 58, 345 (1954).
- Mikkelsen D., Flanagan B. M., Dykes G. A., Gidley M. J.: *J. Appl. Microbiol.* 107, 576 (2009).
- Rangaswamy B. E., Vanitha K. P., Hungund B. S.: *Int. J. Polym. Sci.* 2015, 280784.
- Andree V., Niopek D., Müller C., Eiseltr J.-P., Foh N., Rzany A., Hensel B.: *Mater. Res. Express* 8, 025402 (2021).
- Vasconcellos V. M., Farinas C. S.: *Chem. Eng. Trans.* 64, 145 (2018).
- Kutová A., Staňková L., Vejvodová K., Kvítek O., Vokatá B., Fajstavr D., Kolská Z., Brož A., Bačáková L., Švorčík V.: *Nanomaterials* 11, 1916 (2021).
- Uryu M., Kurihara N. (Sony Corporation): US5274199A (1993).
- Nishi Y., Uryu M., Yamanaka S., Watanabe K., Kitamura N., Iguchi M., Mitsuhashi S.: *J. Mater. Sci.* 25, 2997 (1990).
- Rathinamoorthy R., Kiruba T.: *J. Nat. Fibers* 2020, 1.
- Shi Z., Zhang Y., Phillips G. O., Yang G.: *Food Hydrocolloids* 35, 539 (2014).
- Gallegos A. M. A., Carrera S. H., Parra R., Keshavarz T., Iqbal H. M. N.: *BioResources* 11, 5641 (2016).
- Liu X., Souzandeh H., Zheng Y., Xie Y., Zhong W.-H., Wang C.: *Compos. Sci. Technol.* 138, 124 (2017).
- Norhasliza H., Dayang R. A. B., Suryani K.: *Int. J. Adv. Sci. Eng. Inf. Technol.* 2, 272 (2012).
- Kolářová K., Vosmanská V., Rimpelová S., Švorčík V.: *Cellulose* 20, 953 (2013).
- Picheth G. F., Pirich C. L., Sierakowski M. R., Woehl M. A., Sakakibara C. N., de Souza C. F., Martin A. A., da Silva R., de Freitas R. A.: *Int. J. Biol. Macromol.* 104, 97 (2017).
- Trovatti E., Freire C. S. R., Pinto P. C., Almeida I. F., Costa P., Silvestre A. J. D., Neto C. P., Rosado C.: *Int. J. Pharm.* 435, 83 (2012).
- Silva N. H. C. S., Rodrigues A. F., Almeida I. F., Costa P. C., Rosado C., Neto C. P., Silvestre A. J. D., Freire C. S. R.: *Carbohydr. Polym.* 106, 264 (2014).
- Cacicedo M. L., León I. E., Gonzalez J. S., Porto L. M., Alvarez V. A., Castro G. R.: *Colloids Surf. B* 140, 421 (2016).
- Taokaew S., Nunkaew N., Siripong P., Phisalaphong M.: *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 25, 907 (2014).
- Wang J., Gao C., Zhang Y., Wan Y.: *Mater. Sci. Eng., C* 30, 214 (2010).
- Gonçalves S., Padrão J., Rodrigues I. P., Silva J. P., Sencadas V., Lanceros-Mendez S., Girão H., Dourado F., Rodrigues L. R.: *Biomacromolecules* 16, 1341 (2015).
- Li X., Wan W., Panchal C. J. (Axcelon Biopolymers Corporation): US8940337B2 (2015).
- Wippermann J., Schumann D., Klemm D., Kosmehl H., Salehi-Gelani S., Wahlers T.: *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 37, 592 (2009).
- Klemm D., Schumann D., Udhardt U., Marsch S.: *Prog. Polym. Sci.* 26, 1561 (2001).
- Xu C., Ma X., Chen S., Tao M., Yuan L., Jing Y.: *Int. J. Mol. Sci.* 15, 10855 (2014).
- Torgbo S., Sukyai P.: *Appl. Mater. Today* 11, 34 (2018).
- Hu Y., Catchmark J. M.: *Acta Biomater.* 7, 2835 (2011).
- Czaja W., Krystynowicz A., Bielecki S., Brown R. M.: *Biomaterials* 27, 145 (2006).
- Gorgieva S.: *Processes* 8, 624 (2020).
- Sulaeva I., Henniges U., Rosenau T., Potthast A.: *Biotechnol. Adv.* 33, 1547 (2015).
- Ring D. F., Nashed W., Dow T. (Johnson & Johnson):

- US 4588400 (1986).
48. <http://www.bennetthealth.net/Bionext/#Clinical>, staženo 22. 4. 2021.
 49. Aung B. J.: *Podiatry Today* 17, 20 (2004).
 50. <https://axcelonbp.com/nanoderm-ag/>, staženo 22. 4. 2021.
 51. <https://nexfill.com.br/>, staženo 22. 4. 2021.
 52. Zheng L., Li S., Luo J., Wang X.: *Front. Bioeng. Biotechnol.* 8, (2020).
 53. Ye S., Jiang L., Wu J., Su C., Huang C., Liu X., Shao W.: *ACS Appl. Mater. Interfaces* 10, 5862 (2018).
 54. Vismara E., Bernardi A., Bongio C., Farè S., Pappalardo S., Serafini A., Pollegioni L., Rosini E., Torri G.: *Nanomaterials* 9, 1668 (2019).
 55. Shao W., Liu H., Wang S., Wu J., Huang M., Min H., Liu X.: *Carbohydr. Polym.* 145, 114 (2016).
 56. Volova T. G., Shumilova A. A., Shidlovskiy I. P., Nikolaeva E. D., Sukovaty A. G., Vasiliev A. D., Shishatskaya E. I.: *Polym. Test.* 65, 54 (2018).
 57. Slepíčka P., Rimpelová S., Slepíčková Kasálková N., Fajstavr D., Sajdl P., Kolská Z., Švorčík V.: *Nanomaterials* 11, 182 (2021).
 58. Nguyenová H. Y., Vokatá B., Záruba K., Siegel J., Kolská Z., Švorčík V., Slepíčka P., Řezníčková A.: *React. Funct. Polym.* 145, 104376 (2019).
 59. Vosmanská V., Kolářová K., Pišlová M., Švorčík V.: *Mater. Sci. Eng., C* 95, 134 (2019).
 60. Vosmanská V., Kolářová K., Rimpelová S., Kolská Z., Švorčík V.: *RSC Adv.* 5, 17690 (2015).
 61. Kolářová K., Samec D., Kvítek O., Řezníčková A., Rimpelová S., Švorčík V.: *Jpn. J. Appl. Phys.* 56, 06GG09, 1 (2017).
 62. Idriss H., Elashnikov R., Rimpelová S., Vokatá B., Haušild P., Kolská Z., Lyutakov O., Švorčík V.: *Polymers* 13, 3838 (2021).
 63. Slepíčka P., Siegel J., Lyutakov O., Slepíčková Kasálková N., Kolská Z., Bačáková L., Švorčík V.: *Biotechnol. Adv.* 36, 839 (2018).
 64. Vosmanská V., Kolářová K., Pišlová M., Švorčík V.: *Chem. Listy* 111, 614 (2017).
 65. Maneerung T., Tokura S., Rujiravanit R.: *Carbohydr. Polym.* 72, 43 (2008).
 66. Lin W.-C., Lien C.-C., Yeh H.-J., Yu C.-M., Hsu S.-H.: *Carbohydr. Polym.* 94, 603 (2013).
 67. Cai Z., Jin H.-J., Kim J.: *Proceedings volume 7291, Nanosen-sors, Biosensors, and Info-Tech Sensors and Systems 2009* (Varadan V. K., ed), str. 6. SPIE, San Diego 2009.
 68. Kim J., Cai Z., Lee H. S., Choi G. S., Lee D. H., Jo C.: *J. Polym. Res.* 18, 739 (2011).
 69. Zikmundová M., Vereshaka M., Kolářová K., Pajorová J., Švorčík V., Bačáková L.: *Materials* 13, 4759 (2020).
 70. Wei B., Yang G., Hong F.: *Carbohydr. Polym.* 84, 533 (2011).
 71. Orlando I., Basnett P., Nigmatullin R., Wang W., Knowles J. C., Roy I.: *Front. Bioeng. Biotechnol.* 8, (2020).
 72. de Mattos I. B., Holzer J. C. J., Tuca A.-C., Groeber-Becker F., Funk M., Popp D., Mautner S., Birngruber T., Kamolz L.-P.: *Burns* 45, 898 (2019).
- A. Kutová and V. Švorčík** (*Department of Solid State Engineering, University of Chemistry and Technology, Prague*): **Bacterial Nanocellulose and Its Medical Usage**
- Bacterial nanocellulose (BNC) is produced by some bacterial strains to enable them to keep on the surface of cultural media. Compared to “common” cellulose, BNC becomes even more popular for its higher crystallinity and better mechanical properties. It can be used in a broad spectrum of industrial applications. This work describes the structure, properties, and origin of BNC together with factors that can affect the growth of BNC in a laboratory. Possible usage in industry, particularly in various medical applications, such as wound healing, is also discussed.
- Keywords: nanocellulose, bacterial nanocellulose, bacterial cultivation, medical usage, wound dressing
- Kutová A., Švorčík V.: *Chem. Listy* 116, 308–315 (2022).
 - <https://doi.org/10.54779/chl20220308>
- Acknowledgments*
This work was supported by the project GACR No. 20-01641S and by the project of Specific university research No. A2_FCHT_2021_016.

MNOHONÁSOBNÉ NEZÁVISLÉ STRATY SCHOPNOSTI FOTOSYNTÉZY V EVOLÚCII EUKARYOTOV A METABOLIZMUS NEFOTOSYNTETICKÝCH PLASTIDOV

ALEXANDRA LUKÁČOVÁ a MATEJ VESTEG

Katedra biológie a ekológie, Fakulta prírodných vied,
Univerzita Mateja Bela, Tajovského 40, 974 01 Banská
Bystrica
alexandra.lukacova@umb.sk

Došlo 30.11.20, prepracované 29.11.21, prijaté 8.12.21.

Kľúčové slová: plastidový genóm, kryptické organely, fotosynteticky neaktívne plastidy, esenciálne metabolické dráhy

• <https://doi.org/10.54779/chl20220316>

Obsah

1. Úvod
2. Nefotosyntetickí zástupcovia skupiny Archaeplastida
 - 2.1. Nefotosyntetické červené riasy
 - 2.2. Rod *Rhodolphis*
 - 2.3. Nefotosyntetické zelené riasy
 - 2.4. Nefotosyntetické suchozemské rastliny
3. Nefotosyntetické komplexné plastidy
 - 3.1. Alveolata
 - 3.2. Stramenopiles
 - 3.3. Cryptophyta
 - 3.4. Euglenophyta
4. Záver

1. Úvod

Plastidy, resp. chloroplasty sú eukaryotické organely, ktorých základnou funkciou je zvyčajne fotosyntéza. Podľa počtu membrán, ktoré plastidy obaľujú, a podľa ich evolučného pôvodu rozlišujeme primárne a komplexné (sekundárne, prípadne až terciárne) plastidy.

Primárne plastidy skupiny Archaeplastida zahrňujúcej Glaucophyta, Rhodophyta (červené riasy) a Chloroplastida (zelené riasy a suchozemské rastliny)¹ sú obalené dvomi membránami a vznikli v procese primárnej endosymbiózy z cyanobaktérií (siníc) približne pred 1–2 miliardami rokov². Počas konverzie endosymbiotickej sinice na primárny plastid dochádzalo k endosymbiotickému génovému transferu (EGT) zo sinice do jadra hostiteľskej bunky, s čím súvisel aj vznik aparátu pre import proteínov kódo-

vaných jadrom do plastidu³. Súčasnú primárnu plastidu preto disponujú už len redukovanou verziou pôvodného cyanobaktériového genómu. Zatiaľ čo genómy voľne žijúcich siníc kódujú prinajmenšom 1500 proteínov, plastidové genómy ich kódujú v priemere len 60–200 (cit.⁴).

Komplexné plastidy sú ohraničené tromi alebo štyrmi membránami. Väčšina komplexných plastidov vznikla pravdepodobne procesom sekundárnej endosymbiózy z červených alebo zelených rias, ktoré už obsahovali primárne plastidy. V niektorých prípadoch však nemožno vylúčiť aj terciárny pôvod komplexných plastidov z línií už obsahujúcich sekundárne plastidy. Komplexné plastidy skupín Stramenopiles, Haptophyta, Cryptophyta (ohraničené štyrmi membránami) a Alveolata (ohraničené zvyčajne tromi alebo štyrmi membránami) vznikli z červených rias, prípadne z organizmov už obsahujúcich sekundárne plastidy pôvodom z červených rias⁵. Komplexné chloroplasty pôvodom zo zelených rias ohraničené tromi membránami sú typické pre Euglenophyta zo skupiny Discoba, zatiaľ čo zelené plastidy Chlorarachniophyta zo skupiny Rhizaria sú obalené štyrmi membránami. Kým plastidový genóm endosymbiotickej riasy ostáva u väčšiny komplexných plastidov zachovaný, jadro podlieha spravidla úplnej redukcii. Výnimku predstavujú Cryptophyta a Chlorarachniophyta, u ktorých je zvyšok jadra endosymbionta zachovaný medzi druhou a treťou membránou komplexného plastidu vo forme rudimentárneho jadra, tzv. nukleomorfu⁶.

Hoci je základnou funkciou väčšiny plastidov fotosyntéza, v niektorých líniách bola fotosyntetická funkcia plastidov čiastočne alebo úplne redukovaná, čo viedlo aj k ich štruktúrnej redukcii. Keďže značne redukované plastidy nebolo v minulosti jednoduché identifikovať, získali prívlastok „kryptické“⁵. Nefotosyntetické plastidy sa vyskytujú u rôznych línií eukaryotov pomerne často, ale na rozdiel od redukovaných mitochondrií sú ich genómy a ribozómy cyanobaktériálneho pôvodu až na niekoľko výnimiek zachované^{5,7}. V nefotosyntetických plastidoch spravidla prebiehajú viaceré esenciálne biochemické dráhy, ako je biosyntéza aminokyselín, mastných kyselín, izoprenooidov a kofaktorov ako napr. Fe-S centier (klastrov) a hému^{5,8}. Vo viacerých prípadoch sú do týchto metabolických dráh zapojené niektoré proteíny kódované plastidovými genómami, ktoré sa z tohto dôvodu nemôžu stratit⁵.

U niektorých organizmov však ostáva zachovaný len plastidový kompartment bez genómu a v prípade niektorých zástupcov zo skupiny Alveolata došlo dokonca pravdepodobne k úplnej strate plastidov⁵.

2. Nefotosyntetickí zástupcovia skupiny Archaeplastida

Drvivá väčšina zástupcov skupiny Archaeplastida má fotosyntetické primárne plastidy obalené dvomi membránami pôvodom zo siníc. K strate schopnosti fotosyntézy a redukcií plastidov však došlo u viacerých zástupcov červených a zelených rias, suchozemských rastlín⁵, ako aj u rodu *Rhodolphis*, ktorý je pravdepodobne sesterskou líniou červených rias⁹.

2.1. Nefotosyntetické červené riasy

Strata schopnosti fotosyntetizovať nastala u rôznych línií červených rias v evolúcii minimálne stokrát a je spojená najmä s parazitizmom na iných viac alebo menej príbuzných červených riasach^{10,11}. Príčina zachovania fotosynteticky neaktívnych plastidov u parazitických červených rias a ich funkcia nie je doposiaľ u väčšiny z nich uspokojivo objasnená. Príkladom parazitickej červenej riasy s nefotosyntetickými plastidmi je *Choreocolax polysiphoniae*. Táto riasa je parazitom inej červenej riasy *Vertebrata lanosa*. Predpokladá sa, že plastidy *C. polysiphoniae* by mohli zabezpečovať biosyntézu mastných kyselín, aminokyselín, izoprénu a Fe-S klastrov. V plastidovom genóme tejto riasy je zachovaný len jediný fotosyntetický gén *petF* kódujúci feredoxín, ktorý pravdepodobne slúži ako donor elektrónov v rôznych metabolických dráhach¹².

2.2. Rod *Rhodolphis*

V nedávnej štúdií uverejnenej v časopise Nature v roku 2019 bol popísaný nový jednobunkový rod *Rhodolphis* s dvomi známymi druhmi *R. limneticus* a *R. marinus*, ktorý je na základe fylogenomických analýz sesterskou líniou červených rias⁹. Na rozdiel od väčšiny červených rias sú zástupcovia rodu *Rhodolphis* fotosynteticky neaktívni predátori s dvomi bičkami požírajúci iné mikroorganizmy. Disponujú primárnymi plastidmi, ktoré neobsahujú chlorofyl ani plastidový genóm, ale pravdepodobne zohrávajú významnú úlohu v biosyntéze Fe-S klastrov a hému. Pri syntéze Fe-S centier zrejme zohráva kľúčovú úlohu aj feredoxín a feredoxín-NADP⁺ reductáza, tzv. feredoxínový redoxný systém (tab. I). Závěry z tejto štúdie naznačujú, že spoločný predok červených rias a rodu *Rhodolphis* (a zrejme aj celej skupiny Archaeplastida) bol pravdepodobne mixotrofný bičíkovec schopný vyživovať sa autotrofne fotosyntézou, ale aj heterotrofne fagotrofiou. Väčšina odborníkov pritom ešte donedávna predpokladala, že schopnosť fagocytózy sa stratila už u predchodcu skupiny Archaeplastida hneď po udomácnení endosymbiotickej sinice a jej premene na primárny plastid⁹.

2.3. Nefotosyntetické zelené riasy

Kryptický nefotosyntetický plastid bol zachovaný napr. u parazitickej zelenej riasy *Helicosporidium* sp. a voľne žijúceho oportunistického patogéna *Prototheca*

wickerhamii, ktorý je blízko príbuzný mixotrofnej zelenej riasy *Auxenochlorella protothecoides*¹³. Redukovaný plastidový genóm *Helicosporidium* sp. nekóduje žiadne fotosyntetické gény, ale v jadrovom genóme nachádzame fotosyntetické gény kódujúce enzýmy Calvinovho cyklu s výnimkou ribulózy-1,5-bisfosfát-karboxylázy/oxygenázy (Rubisco). V stróme plastidu *Helicosporidium* sp. prebieha pravdepodobne syntéza aminokyselín, mastných kyselín, tetrapyrolov (resp. hému) a terpenoidov (resp. izoprenoidov) (tab. I), pričom v lumene tylakoidov prebieha zrejme syntéza škrobu¹⁴. Do plastidov je importovaný aj feredoxín¹⁵. V porovnaní s *Helicosporidium* sp. je metabolizmus plastidov *P. wickerhamii* o niečo komplexnejší. Prebieha tu syntéza väčšieho počtu aminokyselín, purínov a pravdepodobne aj viacero oxidačno-redukčných procesov, keďže do plastidov sú zrejme importované proteíny ako feredoxín a thioredoxín¹⁶.

Fotosynteticky neaktívne plastidy s genómom a funkčnými ribozómami sú zachované aj u voľne žijúcich zelených rias *Polytoma obtusum* a *Polytoma uvella*. V plastidovom genóme *P. uvella* došlo k akumulácii nekódujúcich oblastí, intrónov a medzigénových repetícií, preto je momentálne najväčším plastidovým genómom (230 kb) so známou sekvenciou spomedzi nefotosyntetických organizmov¹⁷.

Úplná strata plastidového genómu bola donedávna považovaná za nepravdepodobnú, keďže viaceré gény kódované plastidovým genómom sú spravidla pre nefotosyntetické organizmy s plastidmi esenciálne pre prežitie⁵. V súčasnosti je však známe, že k úplnej strate plastidového genómu došlo u štyroch zástupcov zelených rias rodu *Polytomella* (napr. *Polytomella parva*)⁷. Plastidy tohto zástupcu majú funkciu napr. v syntéze a degradácii škrobu, aminokyselín a lipidov, v syntéze tetrapyrolov, terpenoidov a Fe-S klastrov a v udržiavaní redoxnej homeostázy¹⁸. Rovnaké dráhy sú pravdepodobne prítomné aj u ostatných druhov tohto rodu (tab. I).

2.4. Nefotosyntetické suchozemské rastliny

K viacnásobnej nezávislej strate schopnosti fotosyntézy došlo v rámci niekoľkých línií krytosemenných rastlín a u epiparazitickej pečenečky *Aneura mirabilis*, ktorej plastidový genóm obsahuje aj gén *rbcL* kódujúci veľkú podjednotku enzýmu Rubisco¹⁹. Stupeň redukcie plastidového genómu varíruje u rôznych druhov rastlín, no až na jednu známu výnimku ostáva plastidový genóm vždy zachovaný. Nefotosyntetickým parazitickým magnoliidom (bazálna skupina krytosemenných rastlín) je *Hydnora visseri*. Strata fotosyntézy je pomerne častá aj u mykoheterotrofných (na hubách parazitujúcich) jednoklíčnolistových krytosemenných rastlín. K dispozícii sú kompletne sekvencie plastidového genómu *Petrosavia stellaris* (Petrosaviales), *Sciaphila densiflora* (Pandanales), *Thismia tentaculata* (Dioscoreales) a nefotosyntetických orchideí *Epipogium aphyllum*, *Epipogium roseum*, *Rhizanthella gardneri* a *Corralorhiza striata* var. *vreelandii*. Medzi nefotosyntetické dvojklíčnolistové krytosemenné rastliny patria napr. parazity bôbovitých rastlín *Pilostyles aethiopi-*

ca a *Pilostyles hamiltonii* z radu Cucurbitales, ako aj *Monotropa uniflora* a *Monotropa hypopitys* (synonymum *Hypopitys monotropa*) z radu Ericales. U parazitického rodu *Cuscuta* z radu Solanales je stupeň schopnosti fotosyntézy variabilný v závislosti od druhu a stupňa redukcie jeho plastidového genómu. K nefotosyntetickým zástupcom čeľade Orobanchaceae (Lamiales) patrí napr. *Lathraea squamaria*, *Epifagus virginiana* a *Cistanche deserticola*⁵.

Väčšina suchozemských nefotosyntetizujúcich rastlín a zelených rias má v plastidovom genóme zachovaný gén *accD*. Tento gén kóduje podjednotku acetyl-CoA karboxylázy, ktorá sa podieľa na esenciálnej syntéze mastných kyselín⁵. Napr. v plastidoch mykoheterotrofnej rastliny *M. hypopitys* prebieha popri syntéze mastných kyselín, aj syntéza hému, Fe-S klastrov, izoprenoidov a prítomný je aj feredoxín/feredoxínový redoxný systém¹⁵ (tab. I). Plastidy viacerých nefotosyntetizujúcich rastlín by mohli zohrávať úlohu v degradácii proteínov⁵.

Jedinou známou suchozemskou rastlinou, ktorá pravdepodobne úplne stratila plastidový genóm, pričom plastidový kompartment zostal zachovaný, je *Rafflesia lagascae*²⁰. Funkcia plastidu *R. lagascae* nie je presne známa, no analýza jadrového transkriptómu u príbuzného druhu *Rafflesia cantleyi* naznačila, že do plastidu sú importované proteíny zahrnuté v syntéze hému, terpenoidov, lipidov a aminokyselín²¹.

3. Nefotosyntetické komplexné plastidy

V rámci skupín obsahujúcich komplexné plastidy s niekoľkými (3–4) obalovými membránami pôvodom zo zelených alebo červených rias došlo tiež k viacnásobným nezávislým stratám fotosyntézy a k redukcii plastidov. Takéto prípady sú dobre zdokumentované pre niektoré taxóny zo skupín Alveolata, Stramenopiles, Cryptophyta a Euglenophyta. Menej preštudovaní sú nefotosyntetickí zástupcovia zo skupiny Haptophyta (napr. rody *Balaniger*, *Pappomonas* a *Papposphaera*)²².

3.1. Alveolata

V rámci skupiny Alveolata obsahujú fotosyntetické komplexné plastidy druhy rodov *Chromera* a *Vitrella* a aj mnohí zástupcovia z taxónu Dinoflagellata, v rámci ktorého sú však známi aj nefotosyntetickí zástupcovia. Nefotosyntetické komplexné plastidy nachádzame u väčšiny druhov zo skupiny Apicomplexa, u zástupcov taxónu Colpodellida, u bazálnych línií skupiny Dinoflagellata, akými sú rody *Oxyrrhis* alebo *Noctiluca*, ale aj u sesterskej línie dinoflagelát – Perkinsozoa (rod *Perkinsus*).

Rudimentárny plastid, tzv. apikoplast je nefotosyntetický plastid obalený štyrmi membránami pôvodom z červených rias, ktorý je prítomný u parazitov zo skupiny Apicomplexa ako napr. u pôvodcu toxoplazmózy *Toxoplasma gondii* a u pôvodcu malárie *Plasmodium falciparum*. Vzhľadom na to, že v apikoplaste týchto parazitov prebieha viacero esenciálnych biochemických procesov

ako syntéza hému, Fe-S klastrov, mastných kyselín a izoprenoidov, je prítomnosť apikoplastu a jeho plastidového genómu nevyhnutná pre prežitie väčšiny apikomplexných parazitov²³. V apikoplaste prebieha aj redukcia feredoxínu pomocou feredoxín-NADP⁺ reduktázy (feredoxínový redoxný systém) (tab. I). Redukovaný feredoxín slúži ako donor elektrónov vo viacerých biosyntetických dráhach prebiehajúcich v apikoplaste²⁴.

Vysoko redukovaný plastidový genóm *P. falciparum* (35 kb) kóduje 23 proteínov, 7 ORF (open reading frame – predikovaných proteínov s neznámou funkciou), plastidové rRNA a 25 tRNA (cit.⁵). U tohto parazita je možné vplyvom antibiotík experimentálne indukovať deštrukciu apikoplastu, ktorá vedie k smrti parazita. Ukázalo sa, že v štádiu životného cyklu, keď sa parazit nachádza v krvi človeka, je jedinou biochemickou dráhou prebiehajúcou v apikoplaste esenciálnou pre prežitie syntéza izoprenoidov. Preto ak krvnému štádiu *P. falciparum*, u ktorého bola indukovaná degradácia apikoplastu, externe dodáme prekursor izoprenoidov, parazit nezahynie, ale prežije a ďalej sa delí²⁵. Hoci je syntéza izoprenoidov v plastidoch esenciálna pre väčšinu apikomplexných parazitov, gregaríny *Lecudina tuzetae* a *Pterospira schizosoma* parazitujúce na morských bezstavovcoch pravdepodobne využívajú apikoplast výhradne k syntéze mastných kyselín²⁶ (tab. I).

K úplnej strate apikoplastu pravdepodobne došlo u zástupcov apikomplexných parazitov rodu *Cryptosporidium* a u gregarín parazitujúcich na suchozemských bezstavovcoch ako napr. *Gregarina niphandrodes*. K strate apikoplastu mohlo dôjsť jednak vďaka schopnosti syntetizovať mastné kyseliny pomocou cytosolickej dráhy nezávislej od plastidu⁵, ale aj vďaka schopnosti týchto extracelulárnych parazitov importovať esenciálne metabolity ako hém, izoprenoidy a mastné kyseliny z hostiteľa. Kryptosporídie majú značne zjednodušené monoxenické (jednohostiteľské) životné cykly, žijú neustále v prostredí bohatom na živiny a zároveň majú zníženú spotrebu hému. Kombinácia všetkých uvedených faktorov mohla do značnej miery uľahčiť stratu plastidu u týchto parazitov⁵.

Samostatnou líniou s nefotosyntetickými plastidmi s plastidovým genómom taxónu Alveolata je rod *Digyalum*. Metabolizmus plastidov tohto rodu je podobný typickým apikoplastom. Prebieha tu syntéza hému, Fe-S klastrov, mastných kyselín, izoprenoidov a je tu prítomný aj feredoxínový redoxný systém²⁷.

Colpodellida sú nefotosyntetickí predátori, príbuzní fotosyntetických Chromerida, spolu s ktorými sú radení do taxónu Chrompodellida^{27,28}. U zástupcov Colpodellida *Voromonas pontica*, *Alphamonas edax* a *Colpodella angusta* sa na základe analýz sekvencií transkriptov jadrových génov predpokladá, že viaceré proteíny sú importované do nefotosyntetických plastidov. V plastidoch *A. edax* pravdepodobne prebiehajú všetky biochemické dráhy spomínané u rodov *Plasmodium* a *Toxoplasma*, pričom u *V. pontica* a *C. angusta* z týchto dráh absentuje syntéza mastných kyselín^{27,28}. V súčasnosti nie sú k dispozícii dôkazy o prítomnosti plastidového genómu u týchto druhov (tab. I).

Predpokladá sa, že spoločný predok skupiny Dinoflagellata (panciernatky) disponoval komplexnými plastidmi s tromi membránami obsahujúcimi pigment peridínin, ktoré vznikli pohltitím červenej riasy. Približne polovica zástupcov dinoflagelát je však nefotosyntetických, čo v rámci tejto skupiny poukazuje na mnohonásobnú stratu schopnosti fotosyntetizovať. Aj u nefotosyntetických zástupcov sú však väčšinou prítomné nefotosyntetické plastidy. V rámci skupiny Dinoflagellata je často pozorovaným javom aj prítomnosť terciárnych kleptoplastidov (ukradnutých plastidov), prípadne terciárnych endosymbiontov, resp. plastidov, ktoré vznikajú endosymbiózou z rias už obsahujúcich sekundárne plastidy²⁹. Pôvodné sekundárne peridínínové plastidy sú v týchto prípadoch väčšinou zachované, no značne zredukované – neobsahujú genóm ani peridínin (tzv. kryptické peridínínové plastidy). Príkladom primárne heterotrofného zástupcu Dinoflagellata s kryptickými peridínínovými plastidmi, no často aj s kleptoplastidmi, je rod *Dinophysis*. Rod *Kryptoperidinium* obsahuje kryptický peridínínový plastid, ale aj terciárneho endosymbionta (rozsievku) a rod *Karenia* obsahuje pravdepodobne už len terciárny plastid derivovaný zo zástupcu skupiny Haptophyta, ktorý celkom nahradil funkciu pôvodného peridínínového plastidu³⁰.

V rámci skupiny Dinoflagellata majú popri voľne žijúcich rodoch *Dinophysis* a *Kryptoperidinium* zachované nefotosyntetické peridínínové plastidy bez genómu aj voľne žijúci morskí zástupcovia *Cryptocodinium cohnii*, *Noctiluca scintillans* a *Oxyrrhis marina* (bazálna, starobylá línia panciernatiek)³⁰. Nefotosyntetické plastidy bez genómu, obalené pravdepodobne štyrmi membránami nachádzame aj u parazita uštríc *Perkinsus marinus* zo sesterskej línie panciernatiek (Perkinsozoa)³¹. V plastidoch *P. marinus* prebieha syntéza Fe-S klastrov, redukcia feredoxínu a syntéza izoprenoidov, pričom v kryptických plastidoch *Dinophysis acuminatum*, *C. cohnii*, *N. scintillans* a *O. marina* prebieha okrem týchto troch biochemických dráh aj syntéza hému (tab. I). Predpokladá sa, že u voľne žijúcich panciernatiek sa pôvodný plastid nemôže ľahko stratiť, pretože nie je jednoduché nahradiť najmä plastidovú syntézu izoprenoidov a hému³⁰.

K úplnej strate plastidu došlo pravdepodobne u parazitických panciernatiek rodov *Hematodinium*³² a *Amoebophrya*³³. K úplnej strate plastidu mohli u týchto parazitických zástupcov dôjsť vďaka zachovaniu viacerých starobylých cytosolických anabolických biochemických dráh, presunu niektorých biochemických dráh z plastidov do cytosolu a vďaka čerpaniu viacerých metabolitov z hostiteľov^{32,33}.

3.2. Stramenopiles

Väčšina zástupcov skupiny Stramenopiles má komplexné fotosyntetické plastidy obalené štyrmi membránami. Strata schopnosti fotosyntetizovať nie je v rámci tejto skupiny neobvyklým javom. Štruktúry podobné plastidom boli pozorované u niektorých izolátov rozsievok (Bacillariophyceae) rodu *Nitzschia*, v rámci ktorého došlo niekoľkokrát k nezávislej strate fotosyntézy. V plastido-

vom genóme rozsievky *Nitzschia* sp. NIES-3851 (cca 68 kb) nie sú zachované fotosyntetické gény s výnimkou génov kódujúcich podjednotky ATP-ázy. Zachovanie génov kódujúcich podjednotky ATP-ázy môže súvisieť so zachovaním Tat translokónu pre import proteínov do tylakoidov, ktorý vyžaduje hydrolyzu ATP (cit.³⁴). Nefotosyntetické plastidy tejto rozsievky stratili schopnosť syntézy izopentenyl pyrofosfátu (IPP) a fixácie CO₂ závislej na enzýme Rubisco⁵. V plastidoch sa však zachovali iné dráhy, napr. pre syntézu aminokyselín alebo glukoneogenéza, ale aj syntéza mastných kyselín, Fe-S klastrov a hému³⁵ (tab. I). Namiesto feredoxínu využíva tento zástupca v redoxných procesoch flavodoxín¹⁵.

Nefotosyntetické plastidy sú prítomné aj u rodov *Spumella* sp. NIES-1846 a *Paraphysomonas* (Chrysophyceae) alebo u *Pteridomonas danica* a *Ciliophrys infusionum* (Dictyochophyceae)⁵. *P. danica* a *C. infusionum* disponujú plastidovými genómami, u ktorých nebola doposiaľ stanovená kompletná nukleotidová sekvencia. Napriek tomu je dokázané, že obsahujú minimálne gény *rbcL* a *rbcS* kódujúce veľkú a malú podjednotku enzýmu Rubisco³⁶.

Plastidový genóm *Spumella* sp. NIES-1846 kóduje 45 proteínov, pričom väčšina z nich má úlohu v plastidovej translácii a transkripcii, dva *suf* gény v syntéze Fe-S klastrov a len jeden gén kóduje podjednotku fotosystému (feredoxín, *pefF*) s pravdepodobnou úlohou v iných oxidačno-redukčných dráhach⁸. V plastidoch *Spumella* sp. NIES-1846 bola potvrdená syntéza hému, no neprebíha tu syntéza mastných kyselín ani izoprenoidov (tab. I). Rod *Paraphysomonas* má zachované nefotosyntetické plastidy bez plastidového genómu. Tieto plastidy sa zúčastňujú napr. syntézy hému, lipidov a steroidov⁸.

3.3. Cryptophyta

K nezávislej strate fotosyntézy došlo v rámci rodu *Cryptomonas* minimálne trikrát, pričom u všetkých troch fotosynteticky neaktívnych druhov boli zachované komplexné plastidy ohraničené štyrmi membránami a medzi druhou a treťou membránou plastidu zostal zachovaný aj zvyšok jadra endosymbiotickej riasy, tzv. nukleomorfu. Genóm nukleomorfu *Cryptomonas paramecium* (486 kb) kóduje 466 proteínov³⁸. Pre porovnanie plastidový (pôvodom sinicový) genóm *C. paramecium* (78 kb) kóduje 82 proteínov, 27 tRNA a 3 rRNA, pričom chýba väčšina fotosyntetických génov s výnimkou génov *rbcL* a *rbcS* (veľká a malá podjednotka enzýmu Rubisco), *cbxX* (Rubisco aktiváza) a *atp* génov (podjednotky ATP-syntázy). V plastidovom genóme sú zachované aj gény kódujúce proteíny zodpovedné za import proteínov do tylakoidov (*secA*, *secY* a *tatC*), ktoré sa zachovali aj v plastidovom genóme *Nitzschia* sp. NIES-3581. V plastidovom genóme *C. paramecium* je zachovaný aj *chlI*, teda gén kódujúci magnézium chelatázu, ktorá sa zvyčajne zúčastňuje syntézy chlorofylu, no môže hrať úlohu aj v signalizácii medzi plastidom a jadrom. Zachoval sa aj plastidový gén *pefF* kódujúci feredoxín, ktorý pravdepodobne slúži ako donor elektrónov pre niektoré bioche-

Tabuľka I
 Vybraní zástupcovia s nefotosyntetickými plastidmi, základné charakteristiky a metabolizmus ich plastidov

Zástupcovia (taxonomické zaradenie)	Pôvod plastidu	Počet membrán plastidu	Veľkosť plastidového genómu (kb)	Počet génov kódujúcich proteíny	FAS	Fe-S	HEME	IPP	FDX	RBC
<i>Rhodospira</i> spp. (Archaeplastida, Rhodophidia)	simica	2	0	0	–	+	+	–	+	–
<i>Helicosporidium</i> sp. (Archaeplastida, Chlorophyta)	simica	2	37,5	26	+	+	+	+	+	–
<i>Polytomella</i> spp. (Archaeplastida, Chlorophyta)	simica	2	0	0	+	+	+	+	+	–
<i>Monotropa hypopitys</i> (Archaeplastida, Streptophyta)	simica	2	35	19	+	+	+	+	+	–
<i>Toxoplasma gondii</i> (Alveolata, Apicomplexa)	červená riasa	4	35	21	+	+	+	+	+	–
<i>Plasmodium falciparum</i> (Alveolata, Apicomplexa)	červená riasa	4	35	23	+	+	+	+	+	–
Morské gregaríny (Alveolata, Apicomplexa)	červená riasa	4	0	0	+	–	–	–	–	–
<i>Alphamonas edax</i> (Alveolata, Chromodellida)	červená riasa	4	0	0	+	+	+	+	+	–
<i>Voromonas pontica</i> <i>Colpodella angusta</i> (Alveolata, Chromodellida)	červená riasa	4	0	0	–	+	+	+	+	–
<i>Perkinsus marinus</i> (Alveolata, Perkinsozoa)	červená riasa	4	0	0	–	+	–	+	+	–
<i>Noctiluca scintillans</i> <i>Dinophysis acuminatum</i> <i>Oxyrrhis marina</i> (Alveolata, Dinoflagellata)	červená riasa	3	0	0	–	+	+	+	+	–
<i>Nitzschia</i> sp. NIES-3581 (Stramenopiles, Bacillariophyceae)	červená riasa	4	68	62	+	+	+	–	*	–
<i>Spumella</i> sp. NIES-1846 (Stramenopiles, Chrysophyceae)	červená riasa	4	53	45	–	+	+	–	+	–
<i>Euglena longa</i> (Discoba, Euglenozoa)	zelená riasa	3	73	27	–	+	–	–	+	+

FAS (angl. fatty acid synthesis) – syntéza mastných kyselín; Fe-S (angl. iron-sulfur cluster synthesis) – syntéza Fe-S klastrov; HEME (angl. heme synthesis) – syntéza hému; IPP (angl. isopentenyl pyrophosphate synthesis) – syntéza izopentenyl pyrofosfátu, prekursoru izoprenoidov; FDX – feredoxín, RBC – Rubisco; + metabolická dráha prítomná; – metabolická dráha neprítomná; * flavodoxín nahrádza funkciu feredoxínu.

mické dráhy podobne ako u iných organizmov s nefotosyntetickými plastidmi. Prítomnosť génov *sufB* a *sufC* naznačuje, že v plastide *C. paramecium* prebieha aj syntéza Fe-S klastrov^{37,38}. Ďalšími biochemickými dráhami prebiehajúcimi v tomto nefotosyntetickom plastide je pravdepodobne syntéza aminokyselín a mastných kyselín⁸. Zaujímavosťou je, že ďalšie tri iné nefotosyntetické izoláty rodu *Cryptomonas* majú plastidy s podobnými funkciami, no z plastidového genómu sa stratili gény kódujúce Rubisco³⁹.

3.4. Euglenophyta

Sekundárna strata fotosyntézy nastala viackrát aj v rámci skupiny Euglenophyta, a to napr. u nefotosyntetických druhov *Euglena quartana* alebo *Phacus*³. V súčasnosti nie je známe, či sa u týchto prvokov zachovali plastidy. Najlepšie preštudovaný sekundárny heterotrof spomedzi Euglenophyta je voľne žijúci bezfarebný osmotrofný bičíkovec *Euglena longa*, ktorý je blízko príbuzný fotosyntetizujúcemu druhu *Euglena gracilis*. Komplexné plastidy oboch bičíkovicov sú obalené tromi membránami. Plastidový genóm *E. longa* (73 kb) je v porovnaní s plastidovým genómom *E. gracilis* (143 kb) približne o polovicu menší. V plastidovom genóme *E. longa* chýbajú gény kódujúce proteíny nevyhnutné pre proces fotosyntézy. Výnimkou je len gén *rbcL* kódujúci veľkú podjednotku Rubisco. Väčšina plastidových génov má funkciu v procesoch plastidovej transkripcie a translácie. Predpokladá sa, že plastidový genóm *E. longa* zostal zachovaný za účelom expície génu pre veľkú podjednotku Rubisco, prípadne génov s neznámou funkciou (*orf*)⁴⁰. U *E. longa* dochádza k translácii plastidového *rbcL* génu a aj jadrom kódovaného *RbcS* génu, avšak hladiny týchto proteínov sú výrazne nižšie ako u *E. gracilis*⁴¹. Podľa najnovšej štúdie prebieha v plastidoch *E. longa* linearizovaná Calvin-Bensonova dráha bez glukoneogenetickej časti, ktorá je súčasťou štandardnej Calvin-Bensonovej dráhy. Táto linearizovaná dráha by mohla byť aktivovaná feredoxín/tioredoxínovým redoxným systémom prítomným v týchto plastidoch. Okrem toho prebieha v plastidoch *E. longa* syntéza fosfolipidov, glykolipidov, Fe-S klastrov a syntéza vitamínov E a K. V týchto plastidoch naopak neprebieha syntéza mastných kyselín, izoprenoidov ani hému⁴² (tab. I).

Stratu fotosyntézy je u *E. gracilis* možné indukovať experimentálne vplyvom rôznych fyzikálnych (napr. UV žiarením) a chemických (napr. antibiotikami) faktorov. Ich účinkom dochádza u *E. gracilis* k inhibícii replikácie alebo expície chloroplastového genómu a k nenávratnej strate chloroplastových génov. Tento proces je označovaný termínom „vybielovanie“ (angl. bleaching). Plastidový genóm stabilných bielych mutantov tohto bičíkovca je značne redukovaný, pričom u niektorých pravdepodobne úplne chýba. Pokiaľ majú biele mutanty *E. gracilis* dostatok externých organických zdrojov uhlíka, strata fotosyntézy nemá vplyv na ich životaschopnosť. Paradoxom je, že nefotosyntetický bičíkovec *E. longa* degradáciu plastidového genómu neprežíva⁴⁰.

4. Záver

Výsledkom straty jediného plastidového génu s kritickou funkciou vo fotosyntéze je strata schopnosti fotosyntetizovať. Pre primárne fotosyntetické organizmy je takáto strata väčšinou letálna. V prípade mixotrofov predadaptovaných na heterotrofný životný štýl, žijúcich v prostredí bohatom na živiny (organické zdroje uhlíka pre osmotrofov alebo mikróby pre fagotrofov), po strate jediného fotosyntetického plastidového génu už neexistuje selekčný tlak na zachovanie ostatných fotosyntetických génov a ľahko môže dôjsť k ich postupnej strate. U väčšiny eukaryotických organizmov, ktoré sekundárne stratili fotosyntézu, zostávajú aj napriek tomu spravidla zachované nefotosyntetické plastidy a ich genómy. Dôvodom zachovania nefotosyntetického plastidu s genómom je vo väčšine prípadov zrejme to, že plastidový genóm kóduje minimálne jeden gén, ktorý je esenciálny pre prežitie. Na to, aby sa takýto gén mohol exprimovať, musia zostať zachované aj ďalšie plastidové gény s funkciou v procesoch plastidovej transkripcie a translácie alebo replikácie plastidového genómu.

Dôvodom retencie fotosynteticky neaktívnych plastidov s genómom či bez neho je zvyčajne ich úloha pri zabezpečení esenciálnych metabolických dráh, akými sú najmä syntéza aminokyselín, mastných kyselín, Fe-S klastrov, tetrapyrolu (hému) a nemevalonátová (tzv. DOXP) dráha pre syntézu izopentenyl pyrofosfátu (IPP), prekursoru pre syntézu izoprenoidov⁵. Pomerne často býva zachovaný aj feredoxínový redoxný systém, ktorý slúži ako donor elektrónov pre viaceré redoxné biochemické reakcie prebiehajúce v nefotosyntetických plastidoch.

Medzi esenciálne plastidové tRNA gény, ktoré môžu byť zachované nielen z dôvodu účasti na plastidovej translácii, patrí napr. *trnE* kódujúci Glu-tRNA. U viacerých organizmov je Glu-tRNA kľúčovým prekursorom pre biosyntézu tetrapyrolu (hému a chlorofylu). Pokiaľ nefotosyntetický organizmus nedisponuje inou dráhou pre syntézu hému, plastidový genóm kódujúci Glu-tRNA musí zostať zachovaný⁵.

V plastidovom genóme mnohých nepríbuzných organizmov ako *C. infusionum*, *E. longa*, *P. danica*, *A. mirabilis*, *C. gronovii*, *C. paramecium* a *P. stellaris* je zachovaný *rbcL* gén kódujúci veľkú podjednotku Rubisco. Jej funkcia nie je u väčšiny z nich doposiaľ celkom známa, no predpokladá sa, že môže zohrávať úlohu pri fixácii uhlíka (resp. CO₂), v biosyntéze glycinu a serínu, v alternatívnej dráhe biosyntézy lipidov, prípadne môže fungovať ako oxygenáza. Pokiaľ je plastidový *rbcL* gén esenciálny, tak je aj dôvodom pre zachovanie funkčného plastidového genómu a plastidových ribozómov, vďaka ktorým dochádza k jeho expresii⁵.

K zriedkavej úplnej strate plastidového genómu, no nie samotného plastidu došlo u rodov *Polytomella* a *Rafflesia*^{7,20} a pravdepodobne aj u *Perkinsus*, u viacerých zástupcov z taxónov Colpodellida a Dinoflagellata a u rodu *Paraphysomonas* (Chrysophyceae)^{8,27,28,30}. Vzhľadom na existenciu esenciálnych biosyntetických dráh prebiehajúcich v plastidoch je ich úplná strata ojedinelá²⁸.

K tejto zriedkavej udalosti došlo napr. u panciernatky rodu *Hematodinium*. Táto parazitická panciernatka má dráhy pre syntézu hému a mastných kyselín lokalizované v cytosole a prekursor pre syntézu izoprenoidov (IPP) prijíma z hostiteľa³². Kompletnú stratu plastidu je možné za špecifických podmienok experimentálne indukovať v krvnom štádiu pôvodcu malárie *P. falciparum*. K strate plastidov počas evolúcie došlo aj u ďalších zástupcov skupiny Apicomplexa, ako sú napr. rod *Cryptosporidium* a *G. niphandrodes*⁵.

Strácanie fotosyntézy, plastidových genómov a plastidov nie sú ojedinelé príklady reduktívnej evolúcie. Redukovať, prípadne úplne strácať sa môžu gény, veľké časti genómov, bunkové organely, ale aj makroskopické štruktúry. Reduktívna evolúcia mohla dokonca zohrať významnú úlohu už v najranejších štádiách diverzifikácie života^{43–45} a jej význam môže byť porovnateľný s evolúciou spojenou so zvyšovaním komplexnosti.

Zoznam skratiek

acetyl-CoA	acetylkoenzým A
ATP	adenozíntrifosfát
DOXP	nemevalonátová dráha (1-deoxy-D-xylulóza-5-fosfát dráha)
EGT	endosymbiotický génový transfer
Glu-tRNA	glutamyl-tRNA
IPP	izopentenyl pyrofosfát
NADP ⁺	nikotínamidadenínukleotidfosfát
ORF	otvorený čítací rámec
rRNA	ribozómová ribonukleotidová kyselina
Rubisco	ribulóza-1,5-bisfosfát-karboxyláza/oxygenáza
tRNA	transferová ribonukleotidová kyselina

LITERATÚRA

- Adl S. M. a 46 spoluautorov: *J. Eukaryot. Microbiol.* 66, 4 (2019).
- Parfrey L. W., Lahr D. J. G., Knoll A. H., Katz L. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 13624 (2011).
- Vesteg M., Vacula R., Krajčovič K.: *Folia Microbiol.* 54, 303 (2009).
- Raven J. A., Allen J. F.: *Genome Biol.* 4, 209 (2003).
- Hadariová L., Vesteg M., Hampl V., Krajčovič J.: *Curr. Genet.* 64, 365 (2018).
- Keeling P. J.: *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 583 (2013).
- Smith D. R., Lee R. W.: *Plant Physiol.* 164, 1812 (2014).
- Dorrell R. G. a 10 spoluautorov: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 116, 6914 (2019).
- Gawryluk R. M. R., Tikhonenkov D. V., Hehenberger E., Husnik F., Mylnikov A. P., Keeling P. J.: *Nature* 572, 240 (2019).
- Salomaki E. D., Lane C. E.: *Acta Soc. Bot. Pol.* 83, 369 (2014).
- Blouin N. A., Lane C. E.: *BioEssays* 34, 226 (2012).
- Salomaki E. D., Nickles K. R., Lane C. E.: *J. Phycol.* 51, 217 (2015).
- Yan D., Wang Y., Murakami T., Shen Y., Gong J., Jiang H., Smith D. R., Pombert J. F., Dai J., Wu Q.: *Sci. Rep.* 5, 14465 (2015).
- Pombert J. F., Blouin N. A., Lane C., Boucias D., Keeling P. J.: *PLoS Genet.* 10, e1004355 (2014).
- Kayama M., Chen J.-F., Nakada T., Nishimura Y., Shikanai T., Azuma T., Miyashita H., Takaichi S., Kashiwayama Y., Kamikawa R.: *BMC Biol.* 18, 126 (2020).
- Borza T., Popescu C. E., Lee R. W.: *Eukaryot. Cell* 4, 253 (2005).
- Figuroa-Martinez F., Nedelcu A. M., Smith D. R., Reyes-Prieto A.: *Plant Physiol.* 173, 932 (2017).
- Fuentes-Ramírez E. O., Vázquez-Acevedo M., Cabrera-Orefice A., Guerrero-Castillo S., Gonzalez-Halphen D.: *Microbiol. Res.* 243, 126649 (2021).
- Wickett N., Zhang Y., Hansen S. K., Roper J. M.: *Mol. Biol. Evol.* 25, 393 (2008).
- Molina J. a 16 spoluautorov: *Mol. Biol. Evol.* 31, 793 (2014).
- Ng S. M., Lee X. W., Mat-Isa M. N., Aizat-Juhari M. A., Adam J. H., Mohamed R., Wan K. L., Firdaus-Raih M.: *Sci. Rep.* 8, 17258 (2018).
- Thomsen H. A., Østergaard J. B.: *Acta Protozool.* 53, 235 (2014).
- Salomaki E. D., Kolisko M.: *Biomolecules* 9, 378 (2019).
- Pandini V., Caprini G., Thomsen N., Aliverti A., Seeber F., Zanetti G.: *J. Biol. Chem.* 277, 48463 (2002).
- Yeh E., DeRisi J. L.: *PLoS Biol.* 9, e1001138 (2011).
- Mathur V., Kolisko M., Hehenberger E., Irwin N. A. T., Leander B. S., Kristmundsson A., Freeman M. A., Keeling P. J.: *Curr. Biol.* 29, 2936 (2019).
- Janouškovec J., Paskerova G. G., Miroliubova T. S., Mikhailov K. V., Birley T., Aleoshin V. V., Simdyanov T. G.: *eLife* 8, e49662 (2019).
- Janouškovec J., Tikhonenkov D. V., Burki F., Howe A. T., Kolisko M., Mylnikov A. P., Keeling P. J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 10200 (2015).
- Hehenberger E., Imanian B., Burki F., Keeling P. J.: *Genome Biol. Evol.* 6, 2321 (2014).
- Janouškovec J. a 14 spoluautorov: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 114, E171 (2017).
- Robledo J. A. F., Caler E., Matsuzaki M., Keeling P. J., Shanmugam D., Roos D. S., Vasta G. R.: *Int. J. Parasitol.* 41, 1217 (2011).
- Gornik S. G. a 10 spoluautorov: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 5767 (2015).
- Farhat S. a 26 spoluautorov: *BMC Biol.* 19, 209 (2021).
- Kamikawa R. a 10 spoluautorov: *Mol. Biol. Evol.* 32, 2598 (2015).
- Kamikawa R. a 10 spoluautorov: *Mol. Biol. Evol.* 34, 2355 (2017).
- Sekiguchi H., Moriya M., Nakayama T., Inouye I.: *Protist* 153, 157 (2002).
- Donaher N., Tanifuji G., Onodera N. T., Malfatti S. A., Chain P. S. G., Hara Y., Archibald J. M.: *Genome*

- Biol. Evol. 1, 439 (2009).
38. Tanifuji G., Onodera N. T., Wheeler T. J., Dlutek M., Donaher N., Archibald J. M.: *Genome Biol. Evol.* 3, 44 (2011).
 39. Tanifuji G., Kamikawa R., Moore C. E., Mills T.: *Genome Biol. Evol.* 12, 3926 (2020).
 40. Hadariová L., Vesteg M., Birčák E., Schwartzbach S. D., Krajčovič J.: *Curr. Genet.* 63, 331 (2017).
 41. Záhonová K., Füssy Z., Oborník M., Eliáš M., Yurchenko V.: *PLoS One* 11, e0158790 (2016).
 42. Füssy Z., Záhonová K., Tomčala A., Krajčovič J., Yurchenko V., Oborník M., Eliáš M.: *mSphere* 5, e00675-20 (2020).
 43. Vesteg M., Krajčovič K.: *Curr. Genet.* 57, 367 (2011).
 44. Vesteg M., Šándorová Z., Krajčovič K.: *J. Mol. Evol.* 74, 226 (2012).
 45. Krchňáková Z., Krajčovič K., Vesteg, M.: *J. Mol. Evol.* 85, 37 (2017).

A. Lukáčová and M. Vesteg (*Department of Biology and Ecology, Faculty of Natural Sciences, Matej Bel University, Banská Bystrica, Slovakia*): **Multiple Independent Losses of Photosynthetic Ability in Eukaryotic Evolution and the Metabolism of Non-Photosynthetic Plastids**

Multiple independent losses of photosynthesis have occurred among several unrelated eukaryotic lineages including red and green algae, land plants, alveolates, stramenopiles, cryptophytes and euglenophytes. Most plastid genomes of non-photosynthetic eukaryotes do not contain genes associated with photosynthesis, but they usually encode at least one gene product involved in an essential non-photosynthetic metabolic pathway. Complete loss of plastid genome and simultaneous retention of plastid compartment is rare, and complete plastid loss is documented only for few alveolate species. Non-photosynthetic plastids are often involved in essential fatty acid, isoprenoid, Fe-S cluster, and heme synthesis.

Keywords: plastid genome, cryptic organelles, non-photosynthetic plastids, essential metabolic pathways

● Lukáčová A., Vesteg M.: *Chem. Listy* 116, 316–323 (2022).

● <https://doi.org/10.54779/chl20220316>

PŮVODNÍ A METODICKÉ PRÁCE

TESTOVÁNÍ SORBENTŮ PRO ODSTRANĚNÍ KYSELÝCH PLYNŮ ZE ZPLYŇOVÁNÍ BIOMASY

MAREK MARTINEC^a a PAVEL MACHAČ^b

^a Ústav chemie ochrany prostředí, ^b Ústav plynných a pevných paliv a ochrany ovzduší, Fakulta technologie ochrany prostředí, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
marek.martinec@vscht.cz

Došlo 7.10.21, přijato 2.2.22.

Klíčová slova: separace kyselých plynů, chlorovodík, fluorovodík, sulfan, zplyňování biomasy, sorbenty

• <https://doi.org/10.54779/chl20220324>

Úvod

Současné komerční procesy čištění plynů používají mokré odstraňování halogenidů, sulfanu, pevných částic a jiných nečistot za nízkých teplot, což má za následek rozsáhlé požadavky na úpravu vody^{1–4}. Pro naplnění stále přísnějších limitů pro čištění plynů je zapotřebí nových a levnějších technologií.

Moderními technologiemi jsou membránové separační procesy, které mají některé výhody, např. jednoduchou obsluhu, kompaktnost zařízení, nízkou spotřebu energie a nízké kapitálové investice^{5–7}. Tento způsob čištění je výhodný při nízkých teplotách, nízkých průtocích plynu a vysokých koncentracích oxidu uhličitého. Je však nutné minimalizovat náklady na tuto technologii^{8–10}.

Dalšími běžnými technikami jsou různé sorbenty na bázi oxidů kovů nebo roztoku hydroxidu sodného^{11,12}.

V tomto článku je popsán způsob čištění surového plynu ze zplyňování biomasy. Jako sorbenty byly použity materiály vyrobené laboratorními postupy na bázi Cu, Zn, Ca, Mg aj.

Tento článek navazuje a rozšiřuje náš předchozí výzkum a doplňuje naši předchozí publikovanou studii o vysokoteplotní separaci sulfanu z produkčního plynu¹³.

Experimentální část

Složení testovaného plynu

Surový plyn z procesu zplyňování biomasy je velmi závislý na technologii, provozních podmínkách a typu použitého paliva. Plyn z jednotek s dodávaným kyslíkem se skládá převážně z CO, H₂, CO₂, CH₄ a H₂O. Jako důležitá složka je přítomen také dusík, protože jako oxidant se používá vzduch.

Plynné nečistoty pak vznikají v závislosti na charakteru použitého tuhého surového paliva. Patří sem kyseliny HCl + HF, H₂S, plynné alkalické sloučeniny a těžké kovy. Při nižší teplotě zplyňování jsou v surovém plynu také přítomny těžké uhlovodíky.

Charakteristiky požadavků na generátorový plyn (přijatelné koncentrace složek) jsou shrnuty v tab. I. Je zřejmé, že obsah kyselých složek (HCl) modelového plynu na vstupu do testovacího zařízení je mnohonásobně vyšší než požadované limity.

Sorbenty

K přípravě sorbentů byl použit oxid hořečnatý, sodný a další, které umožňují spojení jednotlivých složek tak, aby výsledná struktura sorbentu měla vhodné vlastnosti, zejména pórovitost, specifický povrch a mechanickou pevnost. Mezi doplňkové složky patří grafit a γ -alumina. Zvolené oxidy kovů jsou vhodné pro zachycování kyselých plynů.

K přípravě sorbentů byly použity metody vyvinuté v našem předchozím výzkumu, zejména několik mokrych metod, kde hydroxidy kovů byly vyrobeny hydrolýzou roztoku dusičnanu kovů a následně vysrážení probíhalo na částicích nosiče. Hydroxid kovů byl potom převeden na oxid a konečná struktura byla získána kalcinací.

Složení sorbentů testovaných při teplotě 500 °C je uvedeno v tab. II.

Složení jednotlivých sorbentů použitých při testování sorpčních kapacit při teplotě 700 °C je uvedeno v tab. III.

Testovací aparatura

Pro účely našich experimentů byla vyvinuta speciální experimentální laboratorní aparatura. Tato aparatura byla také použita v našem předchozím výzkumu a je detailně popsána v našem předchozím článku¹³. Schématický diagram aparatury je znázorněn na obr. 1.

Tabulka I

Složení testovacího plynu

Složka	N ₂	CO	CO ₂	H ₂	H ₂ O	HCl	H ₂ S	HF
% obj.	60,926	17,400	15,300	15,200	13,000	0,015	0,009	0,002

Tabulka II
Složení testovaných sorbentů pro teploty 500 °C

Označení sorbentů	Složení sorbentů, hm. %								
	Al ₂ O ₃	CaO	CuO	Fe ₂ O ₃	grafit	MgO	MnO	Na ₂ O	ZnO
S ₅₀₀₁	68,0	5,3	–	–	–	–	–	26,7	–
S ₅₀₀₂	–	8,5	–	17,0	35,7	8,5	–	–	30,5
S ₅₀₀₃	–	33,0	33,0	–	–	–	–	33,0	–
S ₅₀₀₄	64,0	5,3	4,0	–	–	–	–	26,7	–
S ₅₀₀₅	20,0	8,5	50,0	–	10,0	8,5	–	–	–
S ₅₀₀₆	18,4	1,5	33,1	0,1	–	–	–	–	46,8
S ₅₀₀₇	50,0	–	–	–	3,0	23,5	23,5	–	–

Tabulka III
Složení testovaných sorbentů pro teploty 700 °C

Označení sorbentů	Složení sorbentů, hm. %								
	Al ₂ O ₃	CaO	CuO	Fe ₂ O ₃	grafit	MgO	MnO	Na ₂ O	ZnO
S ₇₀₀₁	–	8,5	–	17,0	35,7	8,5	–	–	30,5
S ₇₀₀₂	–	8,5	70,9	11,7	–	8,5	–	–	–
S ₇₀₀₃	–	–	–	–	–	50,0	50,0	–	–
S ₇₀₀₄	50,0	–	26,0	–	–	–	24,0	–	–
S ₇₀₀₅	–	–	26,0	–	–	50,0	24,0	–	–
S ₇₀₀₆	–	33,0	33,0	–	–	–	–	33,0	–
S ₇₀₀₇	64,0	5,3	4,0	–	–	–	–	26,7	–
S ₇₀₀₈	–	35,6	35,7	–	23,0	5,7	–	–	–
S ₇₀₀₉	–	5,9	49,5	8,1	28,0	8,7	–	–	–
S ₇₀₀₁₀	20,0	8,5	50,0	–	10,0	8,5	–	–	–
S ₇₀₀₁₁	10,0	10,0	–	26,6	30,0	10,0	–	–	13,4
S ₇₀₀₁₂	25,0	9,5	56,0	–	–	9,5	–	–	–
S ₇₀₀₁₃	17,5	7,0	58,8	9,7	–	7,0	–	–	–
S ₇₀₀₁₄	18,4	1,5	33,1	0,1	–	–	–	–	46,8

Popis experimentu:

1) Do horní části reaktoru o vnitřním průměru 28 mm bylo vloženo 20 g sorbentu, přičemž výška vrstvy byla v závislosti na struktuře sorbentu v rozmezí 20 až 30 mm.

2) Vlastní křemenný reaktor s pevným ložem je složen ze dvou částí, z nichž jedna obsahuje vrstvu sorbentu připojenou k napájecímu plynovému systému. Druhou je spodní část upevněná v keramické 2kW elektrické vyhřívané troubě. Křemenný reaktor byl zahříván z 500 °C na 700 °C podle nastavení experimentu.

3) Reaktor byl posléze vyhříván na požadovanou teplotu 500 nebo 700 °C v dusíkové atmosféře. Po dosažení požadované teploty byl tok dusíku zastaven a nahrazen modelovým plynem s průtokem 85 l h⁻¹.

4) Do vstupního proudu plynu byl vstříkovan vodný roztok H₂S, HCl a HF. Po odpaření kapaliny měl plynný proud vstupující do lože sorpčního materiálu koncentraci 150 ppm HCl, 90 ppm H₂S a 20 ppm HF.

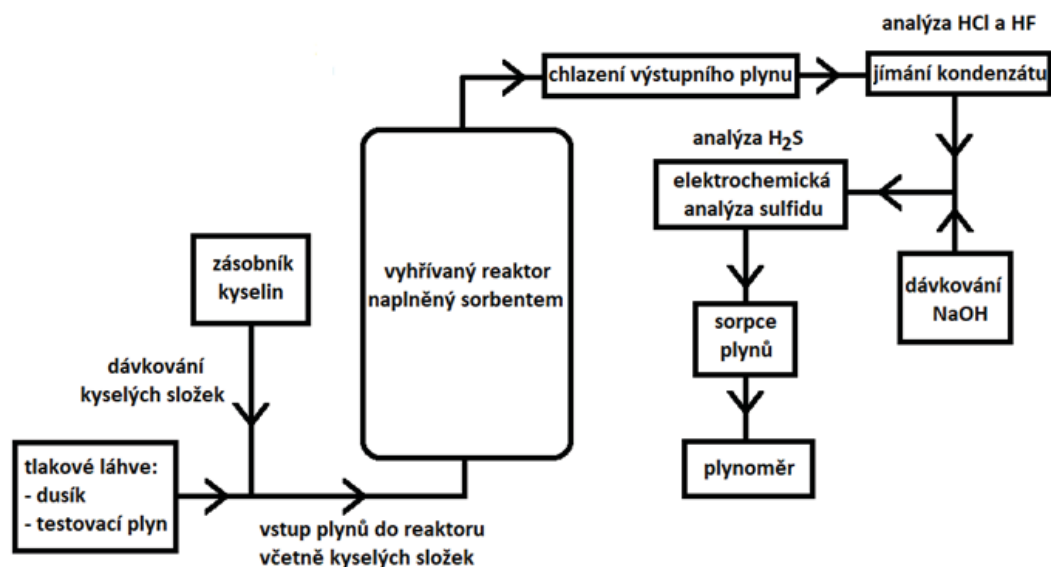
5) Směs plynů byla poté ochlazena na 50 ± 1 °C za

účelem kondenzace vody, kyselých složek a kontroly kyselosti výstupního plynu. Kondenzační diagram vody a kyselých plynů při různých teplotách je znázorněn na obr. 2.

Pro stanovení, zda sorbent dosáhl své maximální sorpční kapacity, byl použit pH papír jako indikátor procházejícího sulfanu. Kondenzát byl použit ke stanovení koncentrace kyseliny chlorovodíkové a fluorovodíkové iontovou chromatografií s nástřikem 25 µl kondenzátu. Byl použit systém iontové chromatografie (ICS) Dionex ICS 1000, DIONEX, USA. Ke stanovení koncentrace sulfanu a bodu průniku sorbentu byla použita iontově selektivní sulfidová elektroda, která měřila koncentraci sulfidů vzniklých sorpcí sulfanu v roztoku hydroxidu sodného.

Výsledky a diskuse

Všechny prezentované údaje byly měřeny duplicitně a statisticky vyhodnoceny metodou směrodatné odchylky



Obr. 1. Schématický diagram laboratorní testovací aparatury

Tabulka IV

Sorpční kapacity sorbentů pro sulfan, chlorovodík a fluorovodík při teplotě 500 °C

Označení sorbentů	Sorpční kapacity sorbentů	
	pro sulfan [g S/kg sorbentu]	pro chlorovodík a fluorovodík [g HCl+HF/kg sorbentu]
S ₅₀₀ 1	0,9	9,4
S ₅₀₀ 2	28,1	15,2
S ₅₀₀ 3	8,3	22,9
S ₅₀₀ 4	19,8	45,8
S ₅₀₀ 5	13,2	15,3
S ₅₀₀ 6	23,1	15,2
S ₅₀₀ 7	6,6	22,9

párových dat dle metodiky IUPAC (cit.¹⁴).

Ze získaných výsledků měření je patrné, že pro teplotu 500 °C se pro sorpci HCl a HF ukázal jako nejslibnější a neúčinnější sorbent složený především z oxidu hlinitého a oxidu sodného obsahující malá množství oxidu měďnatého a vápenatého. Sorpční kapacita tohoto sorbentu pro tyto kontaminanty byla 45,8 g (HCl + HF) / 1 kg sorbentu při teplotě 500 °C. Potvrdila se tak hypotéza o pozitivním vlivu alkalických látek, v tomto případě Na₂O. Pro sulfan a teplotu 500 °C se jako nejslibnější jeví sorbent obsahující převážně oxid zinečnatý, grafit a v menším množství oxidy železité, hořečnaté a vápenaté. Pro teplotu sorpce 500 °C pro HCl, HF a H₂S se ukazuje jako naprosto nevhodný sorbent obsahující vyšší obsah oxidu hlinitého

a sodného. Sorpční kapacity jednotlivých sorbentů pro teplotu 500 °C jsou uvedeny v tab. IV.

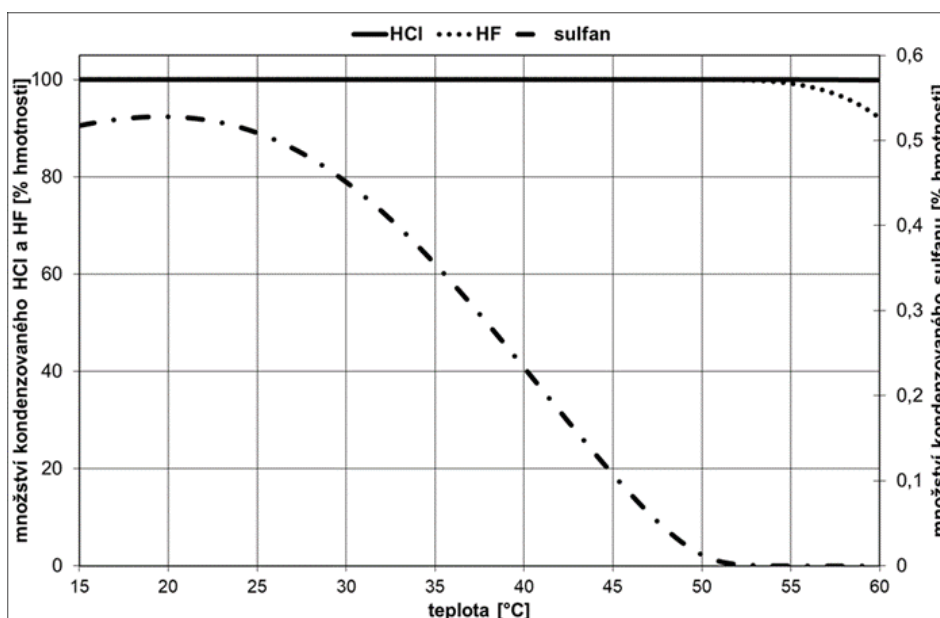
Pro teplotu 700 °C dosáhl nejlepší sorpční kapacity pro HCl a HF sorbent, který je složen převážně z oxidu zinečnatého, oxidu měďnatého a oxidu hlinitého. Sorpční kapacita při 700 °C byla 40,0 g (HCl + HF) / 1 kg sorbentu. V případě tohoto sorbentu došlo k výraznému zvýšení sorpční kapacity z 15,2 g (HCl + HF) / 1 kg sorbentu při 500 °C na 40 g (HCl + HF) / 1 kg při teplotě 700 °C. V případě sorpce sulfanu při teplotě 700 °C se jeví jako nejvhodnější sorbenty obsahující větší množství oxidů zinečnatých, měďnatých a grafitu s obsahem menších množství oxidů vápenatých, hořečnatých, železitých a hlinitých. Nepříliš účinnými sorbenty pro sorpci HCl, H₂S a HF při teplotě 700 °C se ukazují sorbenty na bázi oxidu manganatého či sorbenty obsahující značná množství oxidu měďnatého. Sorpční kapacity sorbentů pro teplotu 700 °C jsou uvedeny v tab. V.

Závěr

Z naměřených výsledků vyplývá, že námi připravené sorbenty na bázi oxidů zinečnatých, měďnatých a hlinitých prokázaly nejlepší sorpční kapacitu pro HCl a HF z bioplynu, zejména pokud obsahují podstatnější množství zásaditých sloučenin, jako je oxid sodný nebo oxid vápenatý. V případě sulfanu se jako nejslibnější jeví oxid zinečnatý, který prokázal nejlepší sorpční kapacitu za teploty 500 i 700 °C. Dále pak sorbenty obsahující oxidy vápenaté, měďnaté a hořečnaté, které dosahovaly rovněž celkem vysokých sorpčních kapacit. V porovnání s komerčně do-

stupnými sorbenty/katalyzátory vycházejí námi připravené sorbenty obdobně či v některých případech i výrazně levněji nežli jejich komerčně dostupné alternativy, jak je uvedeno v tab. VI.

Obsah vlhkosti v plynu, která se tvoří během procesu zplyňování, má negativní vliv na sorpci těchto kyselých plynů a posouvá rovnováhu reakcí směrem k výchozím látkám, což snižuje účinnost odstranění kyselých složek plynu.



Obr. 2. Kondenzační diagram sulfanu, chlorovodíku a fluorovodíku

Tabulka V

Sorpční kapacity sorbentů pro sulfan, chlorovodík a fluorovodík při teplotě 700 °C

Označení sorbentů	Sorpční kapacity sorbentů	
	pro sulfan [g S/kg sorbentu]	pro chlorovodík a fluorovodík [g HCl+HF/kg sorbentu]
S ₇₀₀ 1	26,4	21,3
S ₇₀₀ 2	2,7	2,3
S ₇₀₀ 3	6,6	10,1
S ₇₀₀ 4	4,4	7,4
S ₇₀₀ 5	6,6	9,4
S ₇₀₀ 6	8,8	35,6
S ₇₀₀ 7	8,2	45,7
S ₇₀₀ 8	8,2	11,4
S ₇₀₀ 9	13,2	15,2
S ₇₀₀ 10	24,8	28,6
S ₇₀₀ 11	26,4	24,7
S ₇₀₀ 12	11,5	7,6
S ₇₀₀ 13	21,5	22,8
S ₇₀₀ 14	39,7	40,0

Námi připravené sorbenty na bázi oxidu zinečnatého a měďnatého s obsahem bazických složek se tak jeví jako potenciálně vhodné pro použití v průmyslu pro odstraňování kyselých plynů z bioplynu za vysokých teplot, avšak pro tento typ použití by bylo zapotřebí vyzkoušet tyto sorbenty na reálných provozních zařízeních.

Části této práce byly spolufinancovány v rámci evropského výzkumného programu s názvem Green fuel cell project spolufinancovaný Evropskou komisí na základě smlouvy č. SES6-CT-2004-503122.

LITERATURA

- Sharma I., Hoadley A. F. A., Mahajani S. M., Ganesh A.: *J. Cleaner Prod.* 119, 196 (2016).
- Gatti M., Martelli E., Marechal F., Consonni S.: *Appl. Therm. Eng.* 70, 1123 (2014).
- Liu X., Yang S. Y., Hu Z. G., Qian Y.: *Comput. Chem. Eng.* 83, 48 (2015).
- Zhang R., Chen Y. F., Lei K., Ye B. Q., Cao J., Liu D.: *Asia-Pac. J. Chem. Eng.* 13, (2018).
- Sadeghi M., Talakesh M. M., Shamsabadi A. A., Soroush M.: *ChemistrySelect* 3, 3302 (2018).
- Scholes C. A., Dong G., Kim J. S., Jo H. J., Lee J., Lee Y. M.: *Sep. Purif. Technol.* 179, 449 (2017).

Tabulka VI

Cenové rozpětí připravených a komerčně dostupných sorbentů

Označení sorbentů připravených v rámci výzkumu	Cenové rozpětí [Kč/kg]
S ₅₀₀ 1	70–150
S ₅₀₀ 2	440–530
S ₅₀₀ 3	450–550
S ₅₀₀ 4	100–130
S ₅₀₀ 5	560–680
S ₅₀₀ 6	690–820
S ₅₀₀ 7	730–880
S ₇₀₀ 1	440–530
S ₇₀₀ 2	730–880
S ₇₀₀ 3	1500–1800
S ₇₀₀ 4	720–860
S ₇₀₀ 5	1200–1430
S ₇₀₀ 6	450–550
S ₇₀₀ 7	100–130
S ₇₀₀ 8	550–660
S ₇₀₀ 9	570–680
S ₇₀₀ 10	560–670
S ₇₀₀ 11	320–390
S ₇₀₀ 12	620–740
S ₇₀₀ 13	610–730
S ₇₀₀ 14	690–820
<i>Komerčně dostupné sorbenty:</i>	
Li ESM 490	500
BASF R12-3	1625

- Paolini V. a 10 spoluautorů: *J. Environ. Manage.* 217, 288 (2018).
- Tilahun E., Bayrakdar A., Sahinkaya E., Calli B.: *Waste Manage.* 61, 250 (2017).
- Gholizadeh H., Azar A. A.: *Sep. Sci. Technol.* 52, 2190 (2017).
- Niknejad S. M. S., Savoji H., Chenar M. P., Soltanieh M.: *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 14, 375 (2017).
- Taufany F., Pratama A., Romzuddin M.: *International Seminar on Fundamental and Application of Chemical Engineering 2016 (Isfache 2016) 1840*, (2017).

- Gargiulo N., Peluso A., Aprea P., Micoli L., Ausiello A., Turco M., Marino O., Cioffi R., Jannelli E., Caputo D.: *ACS Appl. Mater. Interfaces* 10, 14271 (2018).
- Machac P., Martinec M.: *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 16, 3971 (2019).
- IUPAC, Inczédy J., Lengyel T., Ure A. M.: *Compendium of Analytical Nomenclature: Definitive Rules 1997*, 3. vyd. Blackwell Science, London 1998.

M. Martinec^a and P. Machač^b (^a *Department of Environmental Chemistry*, ^b *Department of Gaseous and Solid Fuels and Air Protection, University of Chemistry and Technology, Prague*): **Testing of Sorbents for Removal of Acid Gases from Biomass Gasification**

A number of various commercial technologies are available to remove contaminants from gasification gases, particularly those from biomass. However, new cheaper technologies are needed to meet the stringent requirements in gas cleaning, especially for biomass gas production. In this paper, we discuss the suitability of various sorbents prepared by us based on oxides or carbonates of various metals (Al₂O₃, CaO, CuO, Fe₂O₃, MgO, MnO, Na₂O and ZnO) for the removal of acid gases from flue gas during biomass gasification process at elevated temperatures. The acid gas removal efficiencies were experimentally verified for all prepared sorbents under specific conditions such as raw gas composition and temperature. The experimental results showed that the sorbents based on aluminum, copper and zinc oxides have high sorption capacity for selective sorption of hydrogen chloride and hydrogen fluoride. In the case of sulfane, sorbents based on copper and zinc oxides have a high sorption capacity. All these sorbents can then be used to remove acid gases from biogas produced by biomass combustion at elevated temperatures.

Keywords: separation of acid gases, hydrogen chloride, hydrogen fluoride, sulfane, biomass gasification, sorbents

- Martinec M., Machač P.: *Chem. Listy* 116, 324–328 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220324>

Acknowledgements

Parts of this work were co-funded under the European Research Program entitled Green fuel cell project co-funded by the European Commission under contract No. SES6-CT-2004-503122.

nabízí pro akademický rok 2022/2023

DOKTORSKÉ STUDIJNÍ PROGRAMY

(standardní doba studia 4 roky)

- Analytická chemie
- Anorganická chemie
- Anorganická technologie
- Biochemie
- Ekonomika a management podniků s procesními výrobami
- Fyzikální chemie
- Chemické a procesní inženýrství, specializace Environmentální inženýrství; Chemické inženýrství
- Chemie a technologie anorganických materiálů
- Chemie a technologie materiálů, obor Povrchové inženýrství
- Inženýrství energetických materiálů
- Organická chemie
- Organická technologie

Všechny nabízené doktorské studijní programy je možné studovat v prezenční i kombinované formě. Přihlášky k doktorskému studijnímu programu musí být doloženy písemným souhlasem potencionálního školitele s návrhem tématu disertační práce, životopisem, potvrzením o zdravotní způsobilosti, doklady o dosaženém vzdělání.

Přihlášku lze podat buď elektronicky na adrese <http://eprihlaska.upce.cz> nebo na standardním formuláři „Přihláška ke studiu na vysoké škole v ČR“.

Termín přihlášek: 31. května 2022

Metrohm demonstrační laboratoř na Univerzitě Karlově



OBSAH**ÚVODNÍK**

Květen – měsíc lásky a vědy 285
P. Šmejkal

REFERÁTY

Vitamin E – známý či neznámý? 287

J. Fišnar a Z. Réblová

Kurkuma, žlutý zázrak z Východu 293

M. Jurášek a P. Drašar

Normy jako informační zdroj pro laboratoře 296

J. Kratochvíla, Z. Plzák a J. Vilímeč

Limonén a jeho oxidované deriváty: vlastnosti, aplikace a biotechnologická produkce 301

K. Kaniaková, H. Hronská, D. Šilhárová

a M. Rosenberg

Bakteriální nanocelulosa a její medicínské využití 308

A. Kutová a V. Švorčík

Mnohonásobné nezávislé straty schopnosti fotosyntézy v evolúci eukaryotů a metabolismus nefotosyntetických plastidů 316

A. Lukáčová a M. Vesteg

PŮVODNÍ A METODICKÉ PRÁCE

Testování sorbentů pro odstranění kyselých plynů ze zplyňování biomasy 324

M. Martinec a P. Machač

CONTENTS**EDITORIAL**

May – Month of Love and Science 285
P. Šmejkal

REVIEW ARTICLES

Vitamin E – Known or Unknown? 287

J. Fišnar and Z. Réblová

Turmeric, Yellow Miracle from the East 293

M. Jurášek and P. Drašar

Standards as Information Source for Laboratories 296

J. Kratochvíla, Z. Plzák, and J. Vilímeč

Limonene and Its Oxidative Derivates: Properties, Applications and Biotechnological Production 301

K. Kaniaková, H. Hronská, D. Šilhárová,

and M. Rosenberg

Bacterial Nanocellulose and Its Medical Usage 308

A. Kutová and V. Švorčík

Multiple Independent Losses of Photosynthetic Ability in Eukaryotic Evolution and the Metabolism of Non-Photosynthetic Plastids 316

A. Lukáčová and M. Vesteg

ORIGINAL AND METHODOLOGICAL PAPERS

Testing of Sorbents for Removal of Acid Gases from Biomass Gasification 324

M. Martinec and P. Machač



74. Sjezd chemiků
4. – 7. září 2022, Olomouc
<https://sjezd74.csch.cz>



Sekce:

- Anorganická a bioanorganická chemie
- Organická a bioorganická chemie
- Fyzikální chemie a materiálová chemie
- Analytická chemie
- Elektrochemie
- Chemické vzdělávání a historie chemie
- Termická analýza
- Porézni materiály
- Průmyslová chemie
- Chemie přírodních látek
- Biochemie

Zvaní přednášející:

prof. Ing. Vladimír Křen, DrSc. (MBU AV ČR, Praha)
RNDr. Aleš Gavenda, Ph.D. (Teva Czech Industries, Opava)
Ing. Josef Mareš (Policie ČR, scénárista ČT, Praha)
prof. RNDr. Jan Hlaváč, Ph.D. (UP Olomouc)
doc. Ing. Ivan Šalitraš, Ph.D. (STU Bratislava)

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 116 (2022), čís./no. 5 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 146, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 132 • 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 Praha, s ČSPCH a ÚOCHB AV ČR za finanční podpory Rady vědeckých společností ČR, Akademie věd ČR, Nadace Český literární fond a kolektivních členů ČSCH • IČO 444715 • Published by the Czech Chemical Society • VEDOUCÍ REDAKTOR/EDITOR-IN-CHIEF: V. Vyskočil • REDAKTOŘI/EDITORS: J. Barek, E. Benešová, P. Drašar, P. Holý, P. Chuchvalec, M. Jurášek, Z. Kolská, B. Kratochvíl, J. Masák, J. Podešva, P. Šmejkal; Bulletin: P. Drašar; Webové stránky: R. Liboska, V. Vyskočil • ZAHRANIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTOŘI/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA) • TECHNICKÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: R. Řápková • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: K. Bláha, L. Červený, E. Dibuszová, L. Grubhoffer, J. Hanika, Z. Havlas, M. Hof, Z. Hostomský, J. Káš, M. Koman, P. Konvalinka, J. Kotek, J. Koubek, J. Málek, P. Matějka, K. Melzoch, V. Pačes, M. Pospíšil, V. Růžička, P. Slaviček, I. Stibor, V. Šimánek, J. Zima, T. Zima • 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, 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. +420 221 082 383, e-mail: chem.spol@csvts.cz, chem.ekonom@csvts.cz • PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL: <http://www.chemicke-listy.cz> • TISK: TG TISK s.r.o., 5. května 1010, 563 01 Lanškroun • SAZBA, ZLOM: ČSCH, Chemické listy • Copyright © 2022 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 180 Kč, roční plné předplatné 2022 (12 čísel) 1810 Kč, individuální členské předplatné pro členy ČSCH 900 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 96 EUR (doručování via SCHS), individuální členské předplatné pro členy ČSCH 73 EUR (doručování via SCHS), 96 EUR + poštovné (individuální doručování), ceny jsou uvedeny včetně DPH • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG • 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 na <http://www.chemicke-listy.cz>, zkratky časopisů podle Chemical Abstract Service Source Index (viz <http://cassi.cas.org/search.jsp>) • 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 • Molekulární námět na obálce: V. Spiwok • Dáno do tisku 28.4.2022.



Švýcarský nůž analytiky

Inspirovaný věrností a spolehlivostí – to je nová éra SFC

Superkritický fluidní chromatografický systém Nexera UC je dostupný v různých konfiguracích tak, aby poskytoval aplikačně specifické řešení zákazníkům ve farmaceutickém, chemickém a potravinářském průmyslu. Unikátní hardwarové inovace zaručují spolehlivou a stabilní analýzu, kterou lze získat ideální nástroj pro náročné separace vzorků. Díky spojení specifické MS detekce a všestrannosti SFC dosáhne tento systém nejvyšší možné citlivosti.

Bezprecedentní stabilita tlaku zajistí přesná a reprodukovatelná data

pomocí unikátního nízko-objemového regulátoru zpětného tlaku

Rychlejší průtoky, vyšší výkon a nižší náklady na analýzu

díky nízko-viskózní mobilní fázi, která je nejvíce přátelská k životnímu prostředí

Automatizovaný proces vytváření metod pro LC nebo SFC testování

Kombinace se superkritickou fluidní extrakcí spojuje rychlou a jednoduchou přípravu vzorku s nejmodernější chromatografickou analýzou a vysokocitlivostní detekcí



GenElute™-E Single Spin purification kits

Standard silica-based nucleic acid purification spin preparation kits are tedious, requiring multiple wash and spin steps with lots of manual work and little downtime.

The single spin technology. Greener nucleic acid purification

- Purification in one spin for a simplified workflow
- No chaotropic salts or organic solvents for fewer chemical impurities
- Reduced shearing of genomic DNA

Using a negative chromatography method based on size exclusion to separate and purify large nucleic acid molecules from samples, GenElute™-E DNA and RNA purification kits are optimized to provide high yield, high concentration and better-quality DNA and RNA preps compared to silica-based bind-wash-elute spin prep kits.

Better results. Fewer steps. Just elute.
Learn more at SigmaAldrich.com/singlespin

The sustainability facts

GenElute™-E Single Spin kits offer several sustainability benefits beyond standard silica-based kits.

Waste prevention



55% reduction of the consumption of plastic consumables (tubes, pipet tips) compared to silica-based kits

Sustainable packaging



Sustainable forestry certification and more than 70% of recycled content in packaging. Starch-based, compostable bags for kit components

Better usability



Simplified workflow with fewer steps

Safer disposal



No hazardous liquid waste by eliminating bind and wash steps containing ethanol and chaotropic salts

