

Chemické

listy

6



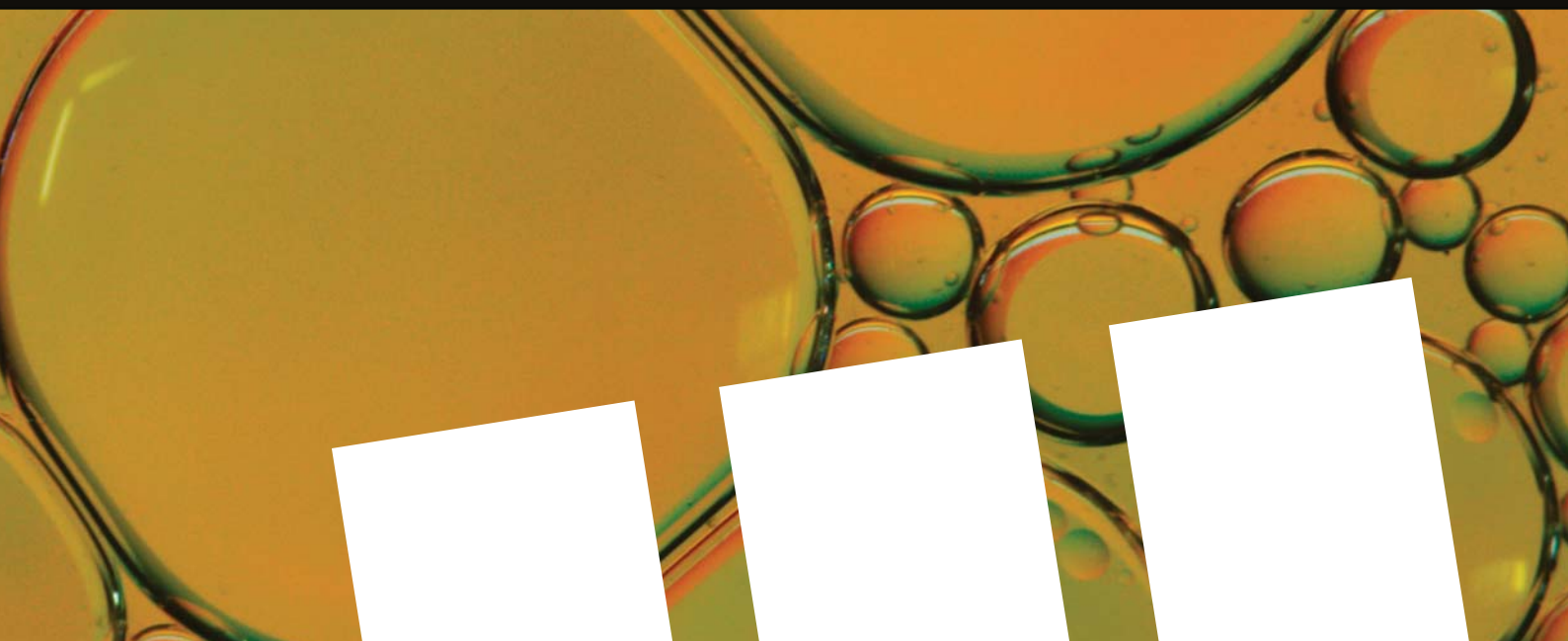
Inhibice mikrobiálního biofilmu

Metody elektrochemického slinování

Enzymové biosenzory pesticidů

Karbamátové inhibitory cholinesteras

What if your Chemistry research received 2x the citations and 3x the amount of downloads?



The benefits for you as an author publishing open access are clear: Articles published open access have wider readership and are cited more often than comparable subscription-based articles.

Submit your paper today.



100 let od první publikace o polarografii v Chemických listech

Jak již bylo upozorněno v úvodníku únorového čísla našeho časopisu¹, letos si připomínáme 100. výročí zrodu polarografie, která výrazným způsobem ovlivnila další rozvoj fyzikální chemie, analytické chemie i dalších společensky významných aplikací chemie v lékařství, environmentálních vědách, zemědělství a potravinářství, ale i v oblasti základního výzkumu souvisejícího se sledováním chemických přeměn organických i anorganických sloučenin. V tomto úvodníku bych rád připomenul další významné výročí v tomto kontextu. V čísle 6 našeho časopisu v roce 1922 vyšla první práce profesora Heyrovského nazvaná „Elektrolýza se rtuťovou kapkovou katodou“ (cit.²) popisující první průkopnické studie v této oblasti, které v roce 1959 vyústily v udělení Nobelovy ceny „za polarografickou metodu analýzy“. Myšlenky Jaroslava Heyrovského v období vzniku polarografie popsal Jiří Koryta³ určitě lépe, než bych to dokázal já. Přiznám se, že jsem rád, že první článek o polarografii vyšel právě v našem časopise a právě v našem jazyce. Možná se tím nabízí i trochu jiný pohled na současné názory některých kolegů a i některých institucí podceňující publikování v národních časopisech, které pochopitelně nikdy nedosáhnou vysokého formálního scientometrického hodnocení. Rozhodně si uvědomuji nezastupitelný význam rozsáhlé mezinárodní spolupráce pro rozvoj věd chemických disciplín v našem státě, ale nemyslím si, že tato spolupráce je v jakémkoliv rozporu s podporou rozvoje českého odborného jazyka, českého odborného školství a českých pracovních kolektivů. Kvalitní práce v této oblasti podle mého názoru může významným způsobem přispět ke zlepšení obrazu naší chemie na mezinárodní scéně v duchu našich nejlepších tradic. A i z tohoto důvodu věnovala Odborná skupina analytické chemie ČSCH ve spolupráci s Odbornou skupinou elektrochemie ČSCH, Ústavem fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, Přírodovědeckou fakultou Univerzity Karlovy a Vysokou školou chemicko-technologickou v Praze značné úsilí připomenout význam těchto výročí pro minulost, současnost i budoucnost našich chemických věd. A připomenout i vynikající postavení české elektrochemie i české elektroanalytické chemie na mezinárodním fóru. Nešlo nám o to pořádat nějaké nové akce, ale využít řadu tradičních akcí pořádaných zejména pro studenty bakalářského, magisterského a doktorského studia pro tyto účely. Mezi tyto akce patří soutěž O cenu Karla Štulíka 2022 (25. ročník soutěže o nejlepší studentskou vědeckou práci v oboru analytické chemie), která letos proběhla v hybridním formátu na Ústavu chemie a biochemie Mendelovy univerzity v Brně⁴, přeshraniční seminář pro studenty elektroanalytické chemie organizovaný českou a německou odbornou skupinou analytické chemie ve spolupráci s Univerzitou v Regensburgu a Univerzitou Karlovou v Praze⁵, soutěž Cena Metrohm 2022 za nejlepší publikaci mladých pracovníků do 35 let v oboru elektroanalytické

chemie, Ramanovy spektrometrie a iontové chromatografie⁶ či připravovaná 18. mezinárodní studentská konference „Moderní analytické metody 2022“ (cit.⁷) určená pro studenty doktorského studia. Na všech těchto akcích byla/budou explicitně zmíněna významná polarografická výročí a jejich zcela nezastupitelný význam. Vyvrcholením pak bude anticipovaná Heyrovského přednáška 2022 v prosinci 2022, kdy doufáme, že po několika online prezentacích se konečně vrátíme k prezentaci živé. Významná je i skutečnost, že díky Pracovní skupině elektroanalytické chemie při Divizi analytické chemie Evropské chemické společnosti (EuChemS) (cit.⁸) byla možnost připomenout tato výročí na řadě významných mezinárodních konferencí z oblasti analytické chemie, kde autor těchto řádků přednesl plenární přednášky věnované historii polarografie a jejímu významu pro moderní analytickou chemii. Jako příklad lze uvést konferenci EuroFAST v holandském Nijmegen⁹ (náhrada za konferenci Euroanalysis zrušenou kvůli Covidu), 18th International Conference on Electroanalysis ESEAC 2022 v litevském Vilniusu¹⁰ či International Meeting on Chemical Sensors v maďarském Visegradu¹¹. O dalších připravovaných akcích budou naši čtenáři průběžně informováni na www stránkách časopisu Chemické listy (www.chemicke-listy.cz), Odborné skupiny analytické chemie (<https://osanal.csch.cz>), Ústavu fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského AV ČR (<https://web.jh-inst.cas.cz/cs>), Katedry analytické chemie PřF UK (<https://www.natur.cuni.cz/chemie/analchem>), VŠCHT Praha (<https://www.vscht.cz>) v souvislosti se 70. výročím založení této nejvýznamnější české chemicky orientované vysoké školy. A pochopitelně se budeme snažit o co nejkvalitnější informování na stránkách našeho časopisu. Závěrem rád plním svou povinnost poděkovat všem institucím a firmám, bez jejichž morální, materiální a organizační podpory by výše uvedené akce vůbec nemohly proběhnout. Z firem bych rád jmenoval Metrohm ČR, Nicolet CZ, Merck CZ, Waters CZ a Helago a z institucí VŠCHT Praha, Univerzitu Karlovu, Mendelovu univerzitu v Brně, Masarykovu univerzitu v Brně a Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR. Ale hlavně bych rád poděkoval spoustě kolegů a kolegyně, kteří věnovali svůj volný čas přípravě těchto akcí a práci se studenty bez ohledu na dnešní minimální oficiální ocenění těchto aktivit. A všem těm studentům, kteří i dnes mají rádi chemii a jsou ochotni pro ni něco obětovat.

Jiří Barek

Předseda výboru Odborné skupiny analytické chemie
České společnosti chemické

LITERATURA

1. Barek J.: Chem. Listy 116, 97 (2022).
2. Heyrovský J.: Chem. Listy 16, 256 (1922).

3. Koryta J.: Chem. Listy 64, 1236 (1970).
 4. <https://ucb.af.mendelu.cz/vyuka/o-cenu-karla-stulika-2022/>, staženo 3. 5. 2022.
 5. https://web.natur.cuni.cz/~krizek/4th_CBSEC/, staženo 3. 5. 2022.
 6. <https://osanal.csch.cz/wp-content/uploads/2022/05/Program-Metrohm-2022-final.pdf>, staženo 3. 5. 2022.
 7. <https://www.natur.cuni.cz/chemie/analchem/aktuality/18th-international-students-conference-2018modern-analytical-chemistry2019-2022>, staženo 3. 5. 2022.
 8. <https://www.euchems.eu/divisions/analytical-chemistry/>, staženo 3. 5. 2022.
 9. <https://www.eurofast2022.eu>, staženo 3. 5. 2022.
 10. <http://www.esec2020.com>, staženo 3. 5. 2022.
 11. <https://matrafured.ch/index.html>, staženo 3. 5. 2022.
- Barek J.: Chem. Listy 116, 333–334 (2022).
 - <https://doi.org/10.54779/chl20220333>

MOŽNOSTI INHIBICE MIKROBIÁLNÍHO BIOFILMU

ZDENĚK KODEŠ, ALENA ČEJKOVÁ a IRENA KOLOUCHOVÁ

Ústav biotechnologie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6
kodesz@vscht.cz

Došlo 7.10.21, přijato 20.2.22.

Klíčová slova: biofilm, inhibice, dezinfekce, antibiotika, stilbeny

• <https://doi.org/10.54779/chl20220335>

Obsah

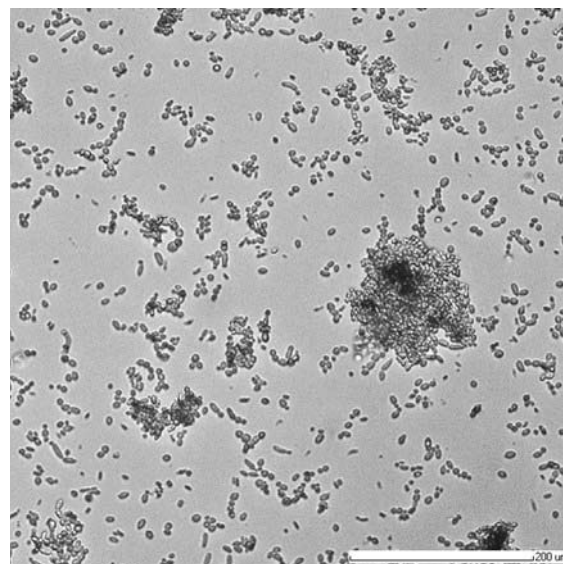
1. Úvod
2. Možnosti inhibice mikrobiálního biofilmu
 - 2.1. Chemická dezinfekce
 - 2.1.1. Dezinfekční látky používané ve zdravotnictví
 - 2.1.2. Účinnost dezinfekčních látek na biofilmy
 - 2.2. Antibiotika
 - 2.2.1. Antibiotika inhibující syntézu buněčné stěny bakterií
 - 2.2.2. Zástupci antibiotik narušující funkci cytoplazmatické membrány
 - 2.2.3. Antibiotika inhibující proteosyntézu
 - 2.2.4. Skupiny antibiotik inhibující syntézu nukleových kyselin
 - 2.3. Antimikrobiální látky rostlinného původu
 - 2.3.1. Stilbeny
3. Závěr

1. Úvod

Častou formou výskytu mikroorganismů v přírodních populacích je tzv. biofilm. Jedná se o seskupení buněk přisedlých k nejrůznějším povrchům. Existence v tomto uskupení je pro mikroorganismy z mnoha důvodů velice výhodná, a proto se v této formě přirozeně vyskytují ve většině prostředí (obr. 1). Trojrozměrná struktura biofilmu (umožněno především díky produkci extracelulárních polymerních struktur) má pro mikroorganismy nejen obrannou funkci vlivem několika vrstev, ale také značně přispívá ke schopnosti rezistence, ve srovnání se suspenzními buňkami. Díky mezibuněčné komunikaci v rámci biofilmu dochází k snadšímu přenosu genetické informace, včetně

genů pro rezistenci vůči antimikrobiálním látkám. Schopnost rezistence mikroorganismů v rámci biofilmu může být dále podpořena přítomností určitých typů enzymů či nejrůznějších povrchových struktur¹.

S biofilmy se setkáváme v medicíně, ale i v dalších odvětvích průmyslu, jako je potravinářský, chemický a biochemický, biotechnologický i farmaceutický. Biofilmy se podílejí např. na korozi kovů, v průmyslových výměnících tepla tvoří tepelnou izolační vrstvu a snižují jejich účinnost². Kdekoli v průběhu výrobního či skladovacího procesu jsou pak nejčastější příčinou kažení potravin a meziproductů v potravinářském průmyslu³. Obdobné problémy způsobují i v biotechnologickém a farmaceutickém průmyslu, kde je dokonalá čistota výrobních zařízení vysokou prioritou. Při výrobě farmaceutických vod je nutné zajistit, aby nedocházelo ke vzniku biofilmů ani žádné jiné formě mikrobiální kontaminace⁴. Biofilmy jsou také zdrojem celé řady infekcí a otrav, jako např. těžkých zánětů plic u pacientů s cystickou fibrózou, infekční endokarditidy (zánětu endokardu a srdečních chlopní) nebo nozokomiálních infekcí (vznikají v souvislosti s hospitalizací pacientů v nemocničním zařízení). Biofilmy se často vyskytují také na kanylách, katétrech, implantátech, kloubních náhradách apod. Nejběžnější formou výskytu biofilmů je zubní plak⁵.



Obr. 1. Ukázka biofilmu kvasinky *Candida krusei* – fotografie pořízena pomocí systému Cellavista, automatizovaného mikroskopu s inverzní optikou

2. Možnosti inhibice mikrobiálního biofilmu

Vzhledem k širokému výskytu mikrobiálních biofilmů je třeba disponovat škálou prostředků pro jejich eliminaci, nejčastěji prostřednictvím chemických dezinfekčních látek a antimikrobiálních látek.

2.1. Chemická dezinfekce

Dezinfekční postupy mohou být fyzikální, chemické nebo kombinované. Jejich cílem je zabránit přenosu nákazy/infekce. Podle vztahu ke konkrétní epidemiologické situaci lze dezinfekci rozdělit na ochrannou a ohniskovou. Ochranná neboli profylaktická dezinfekce nemá vztah ke konkrétnímu ohnisku nákazy a je součástí komplexních hygienických opatření. Ohnisková neboli represivní dezinfekce je zaměřena na zneškodňování patogenních mikroobů v ohnisku nákazy a přerušování dalšího šíření infekce⁶. Účinnost biocidních látek je ovlivňována různými faktory, především koncentrací biocidu, dobou působení, pH, teplotou, přítomností látek narušujících účinnost i vlastnostmi samotných mikroorganismů⁷.

2.1.1. Dezinfekční látky používané ve zdravotnictví

Často užívanými dezinfekčními látkami jsou hydroxidy a jiné alkálie. Jejich účinek závisí na koncentraci hydroxidových iontů, jsou často přidávány pro zvýšení účinnosti k jiným dezinfekčním roztokům⁶. Účinek kyselin a jejich derivátů je založen na působení vodíkových iontů, aniontů nebo celých molekul, povrchové aktivitě, oxidačních nebo dehydratačních schopnostech. Použití anorganických kyselin je značně omezeno nejen ve zdravotnictví, ale také v průmyslu pro jejich korozivní a dráždivé účinky⁶. Látky s oxidačním účinkem způsobují poškození buněčných struktur, DNA a enzymů prostřednictvím uvolňovaných radikálových částic⁸. Halogeny způsobují oxidativní poškození a vznik pro buňku toxických sloučenin⁶. Nejširší využití mají sloučeniny s aktivním chlorem a jodové přípravky ve formě vodných a alkoholových roztoků nebo jodoforů⁸. Alkoholy mají schopnost koagulovat a denaturovat bílkoviny⁶. Nejúčinnější jsou 60–70% vodné roztoky a jejich účinnost není významně ovlivňována ani přítomností organické kontaminace⁸. Fenolové sloučeniny patří mezi látky poškozující buněčné membrány⁸. K dezinfekci je možné použít i sloučeniny různých kovů. Mechanismem účinku jsou reakce s thiolovými skupinami bílkovin, čímž je narušena funkce enzymů. Působí především na gram-negativní bakterie^{6,8}. Povrchově aktivní látky, tenzidy, snižují povrchové napětí svých rozpouštědel. Anionaktivní tenzidy ve vodném prostředí disociují na aktivní anion a neaktivní kation, na rozdíl od kationaktivních tenzidů (kvartérní amoniové sloučeniny), se vyznačují silným membrány poškozujícím účinkem⁸. Působí především na gram-pozitivní bakterie a mikroskopické houby⁶.

2.1.2. Účinnost dezinfekčních látek na biofilmy

Složení extracelulárního matrix biofilmů má zásadní vliv na účinek/účinnost desinfekčních prostředků. Skládá se z mnoha složek především polysacharidového

a proteinového charakteru. Díky této struktuře je ztížena samotná difuze dezinfekčních prostředků biofilmem. Další překážkou je i působení elektrostatických sil, kdy biofilm s negativním nábojem brání difuzi pozitivně nabitých částic. Negativní vliv mohou mít také hydrofobní interakce mezi extracelulárními složkami a dezinfekčními prostředky⁹. Ty bývají často vysoce reaktivní a chemickými reakcemi se složkami matrix se snižuje jejich účinnost. Naopak méně reaktivní dezinfekční látky pronikají biofilmem lépe¹⁰.

Kromě tvorby extracelulární matrix dochází při tvorbě biofilmu také k produkci různých metabolitů. To může způsobovat změny u buněk biofilmu (rychlost růstu, složení buněčných membrán, aktivace obranných mechanismů) a zvyšovat tak rezistenci vůči dezinfekčním látkám. Dále může docházet k aktivaci efluxních pump, které umožňují buňkám vyloučit toxické látky zpět do prostředí. Buňky také dovedou regulovat stresové odpovědi pomocí mechanismu „quorum sensing“, což jim umožňuje řízení produkce ochranných enzymů (katalasy, superoxidodismutasy apod.). Díky tomu se opět zvyšuje rezistence k dezinfekčním prostředkům. Tato rezistence se může také přenášet mezi buňkami biofilmu genetickou informací v podobě plazmidů, transpozomů a integronů⁹.

Účinnost dezinfekcí je snižována také výhodnou symbiózou různých druhů mikroorganismů v biofilmu. Extracelulární matrix je viskóznější, a tudíž méně prostupná pro biocidy. Produkované enzymy poskytují vzájemnou mezidruhovou ochranu a prostorové uspořádání trojrozměrné struktury biofilmu zajišťuje méně odolnému druhu ochranu poskytnutou odolnějším druhem vůči působení biocidů⁹.

Snížení schopnosti rezistence buněk biofilmu lze dosáhnout kombinací použití více dezinfekčních látek najednou nebo společně s antibiotiky či přírodními biologicky aktivními látkami.

2.2. Antibiotika

Antibiotika lze definovat jako látky mikrobiálního původu inhibující růst jiných mikroorganismů při nízkých koncentracích. Do této skupiny patří kromě přírodních antimikrobiálních látek také všechny ostatní látky (semisyntetická analoga, chemoterapeutika apod.) bez ohledu na jejich původ¹¹.

Dle antimikrobiálního spektra (citlivost mikrobiálních druhů a kmenů k dané látce) lze antibiotika dělit na látky s úzkým, rozšířeným a širokým spektrem účinku. Dále se antibiotika dělí dle mechanismu jejich účinku na mikrobistatická a mikrobicidní. První skupina zastavuje množení buněk, mikrobicidní antibiotika buňky usmrcují. Obě skupiny se dají použít k likvidaci mikrokoloníí a biofilmů^{11,12}. Účinkují proti různým druhům mikrobů, ale mohou působit také proti houbám, bakteriím a jiná zase proti parazitickým prvokům. Jejich účinek však není zaručený, především díky extracelulární hmotě jsou jejich účinky zpomaleny nebo úplně potlačeny. Je tedy často potřeba znásobit jejich dávkování^{12,13}.

Na základě chemického složení antibiotik společně s předpokládaným mechanismem účinku (způsob zásahu do syntézy biomakromolekul mikrobiální buňky) je lze také dělit do různých skupin¹⁴ na zástupce inhibující syntézu buněčné stěny bakterií (1), narušující funkci cytoplazmatické membrány (2), inhibující proteosyntézu (3) a ty inhibující syntézu nukleových kyselin (4).

2.2.1. Antibiotika inhibující syntézu buněčné stěny bakterií

Mechanismus tohoto účinku spočívá v navázání antibiotika na enzymy potřebné pro tvorbu buněčné stěny (např. transpeptidasy, transglykosidasy a karboxypeptidasy) a zablokování tak jejich aktivity. Buňka se bez schopnosti tvorby buněčné stěny přestává dělit a umírá¹⁴.

Pro β -laktamová antibiotika, patřící do této skupiny, je charakteristická přítomnost čtyřčlenného β -laktamového kruhu ve strukturálním jádru. Inhibují syntézu buněčné stěny blokadou transpeptidačních reakcí formujících peptidoglykan ve stěně. Do této skupiny antibiotik patří peniciliny, cefalosporiny, monobaktamy a karbapenemy^{14,15}.

Struktura penicilinů (obr. 2) vychází z kyseliny 6-aminopenicilanové, tvořené thiazolidinovým a β -laktamovým kruhem. Vlastnosti jednotlivých penicilinů se mohou měnit v závislosti na postranních skupinách a řetězcích připojených k základní struktuře. Prvním objeveným antibiotikem byl penicilin G neboli benzylpenicilin s úzkým spektrem účinku, působí především proti grampozitivním mikrobům. Oproti tomu aminopeniciliny a karboxypeniciliny mají širokospektrý účinek. Peniciliny jsou velmi málo toxické, ale často způsobují různé závažné alergické reakce¹⁴⁻¹⁶.

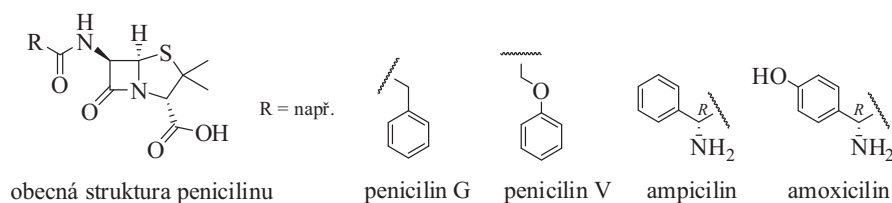
Do skupiny β -laktamových antibiotik patří také cefalosporiny (obr. 3), jejichž základní strukturou je kyselina 7-aminocefalosporánová. Dělí se do čtyř generací podle antimikrobního spektra, odolnosti vůči β -laktamasám, rychlosti průniku skrz buněčnou stěnu bakterií a uvedení do klinické praxe. Mají široké spektrum antibakteriálního působení a jejich toxicita je pro pacienta velmi nízká^{14,15}.

Cefalosporiny 1. generace jsou nejstarší, působí především na grampozitivní stafylokoky a streptokoky a podávají se při raných infekcích, endokarditidách a infekcích respiračního a močového traktu. Pro léčbu infekce močových cest se používají také cefalosporiny 2. generace. Kromě toho jsou indikovány k léčbě horních a dolních cest dýchacích a infekcí měkkých tkání a kůže. Oproti 1. generaci lépe odolávají β -laktamasám a mají širší spektrum antibakteriálního účinku.

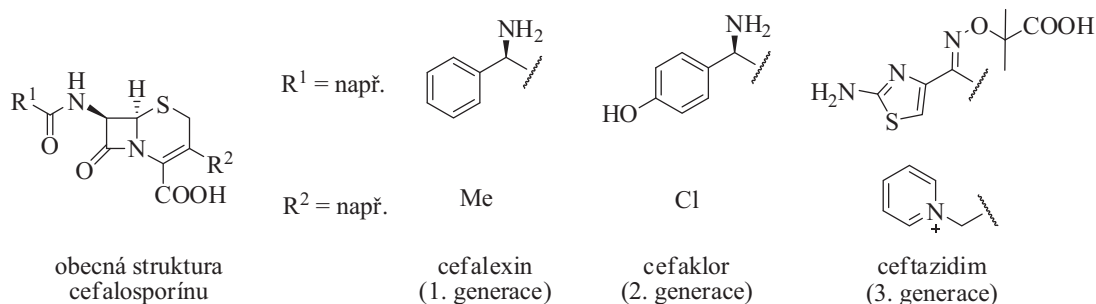
Širokospektrá je i 3. generace, avšak s nižší účinností na grampozitivní bakterie. Zástupci této generace jsou vysoce odolní vůči β -laktamasám a v praxi se používají méně často, především u komplikací vážných infekčních onemocnění (poruchy imunity apod.), k léčbě středně těžkých a těžkých infekcí a u nozokomiálních nákaz.

4. generace cefalosporinů má značnou odolnost vůči β -laktamasám, jsou velice účinné proti řadě gramnegativních i grampozitivních bakterií. Používají se však pouze pro velmi vážné klinické stavy (těžké močové infekce, závažné nozokomiální infekce, septické stavy apod.)^{14,15}.

Přestože monobaktamy jsou novější generací β -laktamových antibiotik, jediným v praxi používaným monobaktamovým antibiotikem je aztreonam. Jeho odolnost vůči β -laktamasám je vysoká, účinek však užší – působí především na gramnegativní bakterie včetně *Pseudomonas aeruginosa*. Špatně se vsřebává v trávicím traktu, proto se podává parenterálně (inhalační formou). Používá



Obr. 2. Příklady chemických struktur penicilinů



Obr. 3. Příklady chemických struktur cefalosporinů

se k léčbě sepse a břišních infekcí, dále pak k léčbě močových infekcí a infekcí horních i dolních cest dýchacích¹⁵.

Poslední skupinou β -laktamových antibiotik jsou karbapenemy. Patří mezi baktericidní antibiotika, jejich spektrum účinku je velmi široké a odolnost vůči většině β -laktamas vysoká. Používají se u těžkých život ohrožujících infekčních komplikací a při nozokomiálních infekcích vyvolaných multirezistentními kmeny. Do této skupiny patří např. meropenem a imipenem¹⁵.

Glykopeptidová antibiotika zamezují inkorporaci *N*-acetylmuramylové kyseliny a *N*-acetylglukosaminu do buněčné stěny a patří do skupiny baktericidních antibiotik¹⁷. Zástupci této skupiny jsou vankomycin a teikoplanin. Vankomycin se používá u závažných enterokokových a stafylokokových infekcí, je výrazně ototoxický a nefrotoxický v závislosti na plazmatické koncentraci. Spektrum účinku teikoplaninu je velice podobné vankomycinu, není však toxický a je lépe snášen¹⁵.

Mezi peptidová antibiotika patří bacitraciny a polymyxiny. Mechanismem inhibice syntézy buněčné stěny se vyznačují bacitraciny, jejichž hlavním představitelem je bacitracin. Patří mezi baktericidní antibiotika s hlavním účinkem na grampozitivní bakterie. Je vysoce toxický (neurotoxická a nefrotoxická) a užívá se lokálním způsobem¹⁴.

2.2.2. Zástupci antibiotik narušující funkci cytoplazmatické membrány

Působením antibiotik s tímto účinkem dochází k narušení permeability membrány, což vede k uvolnění iontů a metabolických látek z buňky. Vlivem takto poškozeného intracelulárního prostředí buňky dochází k jejímu zániku^{14,18}.

Příkladem peptidového antibiotika se zmiňovaným účinkem je polymyxin B (obr. 4). Vyznačuje se cyklickými peptidy s dlouhými hydrofobními konci, které slouží k interakci s lipopolysacharidovými molekulami na vnějším povrchu membrány a umožní tak přístup zbývající části molekuly antibiotika, která je následně příčinou destabilizace buněčné membrány¹⁹. Tímto způsobem dochází k zpřístupnění buňky i pro další látky, proto je polymyxin B vhodný pro použití v kombinaci s dalšími antibiotiky. Účinkuje proti gramnegativním bakteriím²⁰.

Polymyxin B je účinný především na kvasinky a plísňe, proto se v praxi setkáváme s pojmem antimykotika namísto antibiotik. Mezi nejznámější léčiva patří

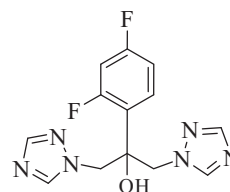
amfotericin B. Tato nízkomolekulární látka využívá iontových kanálů k narušení cytoplazmatické membrány eukaryotických mikroorganismů. Dochází tak k oslabení schopnosti jejich rezistence a následně k úmrtí buněk. Často se podává intravenózně k léčbě systémových mykotických infekcí, vyšší dávky mohou mít toxické účinky na lidské buňky²¹. Pro lokální aplikace se užívá nystatin, opět kvůli značné nefrotoxicitě a ototoxicitě.

Spektrum účinku azolových antibiotik je velice podobné polyenovým antibiotikům, proto lze i tyto přípravky nazývat antimykotiky. Nejběžněji užívaným přípravkem je flukonazol (obr. 5). Jedná se o triazolovou antifungální látku první generace a místem jejího účinku jsou fungální buněčné membrány. Působí fungistaticky – inhibuje aktivitu enzymu, který je odpovědný za biosyntézu ergosterolu, nejvýznamnějšího membránového strukturního sterolu hub. Tím dochází k poškození buněčné membrány patogenu, inhibici jeho růstu a replikace. Flukonazol se podává většinou perorálně nebo intravenózně, má široké spektrum účinku a biologická dostupnost je velmi vysoká. Používá se proti řadě houbových infekcí, jako jsou kandidózy, blastomykóza, dermatofytózy a další. Uplatnění nachází také v prevenci kandidóz po transplantacích orgánů a v boji proti biofilmovým infekcím způsobeným nejčastěji mikroorganismy rodu *Candida*^{22–24}. K dalším zástupcům této skupiny antimykotik patří ketokonazol a klotrimazol.

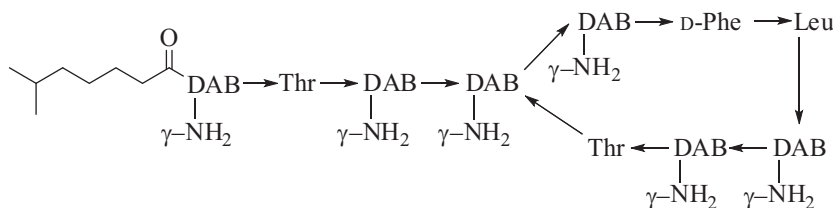
2.2.3. Antibiotika inhibující proteosyntézu

Třetím typem mechanismu účinku antibiotik je inhibice syntézy bílkovin bakterií pomocí interference s pochody probíhajícími na ribosomech. Jedná se o bakteriostatický účinek a taková antibiotika patří mezi nejpoužívanější přípravky v klinické a průmyslové praxi^{15–18}.

Prvním širokospektrým antibiotikem s bakteriostatickým účinkem skupiny amfenikolů je chloramfenikol. Působí na gramnegativní mikroorganismy a používá se



Obr. 5. Chemická struktura Flukonazolu



Obr. 4. Chemická struktura Polymyxinu B (DAB = 2,4-diaminobutanová kyselina)

k léčbě různých infekcí, např. bakteriální meningitidy, infekce dýchacích cest a břišního tyfu. Primární toxicita chloramfenikolu je nízká, způsobuje však řadu nežádoucích účinků, jako např. poruchu krvetvorby nebo ireverzibilní aplastickou anémii. V praxi se více používá analog thiamfenikol¹⁴.

Na obr. 6 je vyobrazena obecná struktura tetracyklinů s variabilními substituenty R. Inhibují tvorbu bílkovin na úrovni ribozomů – reverzibilně se váží na receptor umístěný na 10S podjednotce ribozomu a blokují tak vazbu aminoacyl-tRNA na akceptorové místo na komplexu mRNA. Spektrum jejich bakteriostatického účinku je široké – působí proti grampozitivním i gramnegativním bakteriím a používají se k léčbě infekcí dýchacích cest. Využívají se i ve veterinárním lékařství a zemědělství. Mají nízkou primární toxicitu, ale vykazují řadu nežádoucích účinků, jako např. fotosenzibilizaci nebo gastrointestinální poruchy. Do této skupiny antibiotik řadíme např. oxytetracyklin, chlortetracyklin a doxycyklin^{14,15}.

Další skupinou antibiotik působící na syntézu bílkovin bakterií jsou makrolidy. Jejich bakteriostatický účinek spočívá v reverzibilním navázání na receptor umístěný na 28S podjednotce ribozomu. Často se užívají jako lék druhé volby při výskytu alergie na penicilin, a to k léčbě pneumokokových, streptokokových a stafylokokových infekcí. Hlavním zástupcem této skupiny je erytromycin (obr. 7). Dalšími zástupci jsou pak azitromycin, roxitromycin a tylosin^{14,15}.

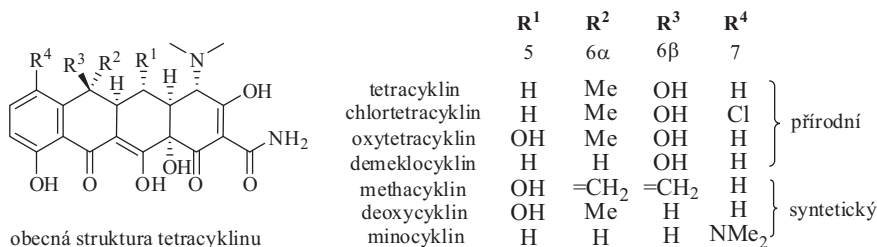
Proteosyntézu inhibují i linkosamidy. Mechanismem jejich účinku je inhibice enzymu peptidyltransferasy, čímž dochází k inhibici vazby aminoacyl tRNA do místa A na

podjednotce 28S ribozomu¹⁷. Jejich účinek je tedy bakteriostatický a podobně jako makrolidy mají užší spektrum účinku. Působí především na grampozitivní a anaerobní bakterie a užívají se k léčbě stafylokokových infekcí. Vykazují relativně nízkou toxicitu. Příkladem látek této skupiny jsou klindamycin a linkomycin^{14,15}.

Aminoglykosidy, kromě inhibice tvorby bílkovin, způsobují poškození cytoplazmatické membrány. Jejich baktericidní účinek spočívá v navázání na 10S podjednotku ribozomu a následném posunu čtecího rámce vlivem této vazby. Posunem pak dochází k narušení správné proteosyntézy nebo ke špatnému skládání proteinů¹⁷. Aminoglykosidy mají široké spektrum účinnosti s vlivem na grampozitivní i gramnegativní mikroorganismy. Užívají se k léčbě tuberkulózy, povrchových infekcí kůže a sliznic. Vykazují výrazné nefrotoxické a ototoxické účinky. Aminoglykosidy mají výrazný postantibiotický efekt – inhibiční efekt na bakterie přetrvává i po poklesu plazmatické koncentrace na nízké hodnoty. Z tohoto důvodu je možné antibiotika podávat jednou denně, čímž se výrazně snižuje i jejich toxický efekt. Dále se také využívají v klinické praxi díky značnému vlivu na biofilmy, nejčastěji však v kombinaci s dalšími látkami (např. manitol)²⁵. Do této skupiny antibiotik řadíme streptomycin, neomycin, gentamicin nebo kanamycin^{14,15}.

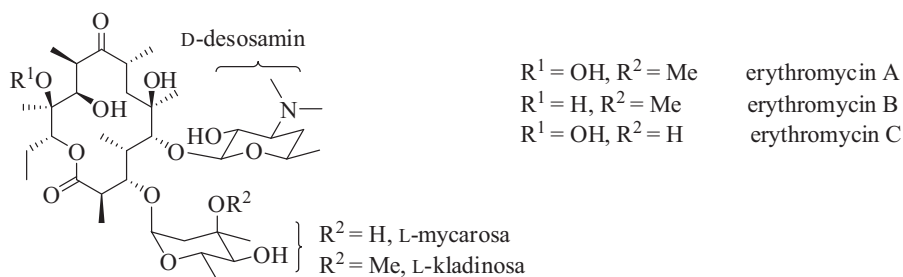
2.2.4. Skupiny antibiotik inhibující syntézu nukleových kyselin

Mechanismus inhibice syntézy nukleových kyselin při replikaci DNA nebo transkripci téměř nerozlišuje bakteriální buňku patogenu od buněk vyšších organismů.



obecná struktura tetracyklinu

Obr. 6. Chemické struktury tetracyklinů



Obr. 7. Chemické struktury erytromycinů

Z tohoto důvodu je většina takových antibiotik vysoce toxická. Do této skupiny preparátů patří i rifampicin, jehož detailnějším mechanismem je inhibice DNA-dependentní RNA-polymerasy bakterií, čímž znemožňuje syntézu bakteriální RNA (cit.^{14,18}).

Chinolonová chemoterapeutika fungují na principu inhibice DNA-gyrasy a topoisomerasy IV. Tyto enzymy jsou odpovědné za bezchybné zřetězení a rozvolnění superhelikální DNA během replikace. Chinolony se dělí na nefluorované a fluorované, kdy fluorované mohou být ještě navíc s rozšířeným spektrem účinku^{14,15}. První generaci těchto chemoterapeutik tvoří nefluorované chinolony, mezi něž patří např. kyselina nalidixová, pipemidová a oxolinová. Působí především na enterobakterie a užívají se k léčbě močových infekcí.

Účinnější fluorované chinolony mají ve své struktuře substituovaný fluor a jedná se o chinolony 2. – 4. generace. Mají široké antimikrobní spektrum, působí nejen proti gram pozitivním a gram negativním bakteriím, ale i proti intracelulárním parazitům. Jejich účinek je baktericidní. Do této skupiny patří norfloxacin, pefloxacin, ofloxacin, lomefloxacin a ciprofloxacin. Užívají se k léčbě infekcí močových cest, u těžkých systémových infekcí a při infekcích horních i dolních dýchacích cest. Ciprofloxacin se pak v klinické praxi používá v kombinaci s dalšími látkami (např. tobramycin) k léčbě cystické fibrózy způsobené počínající tvorbou biofilmu bakterie *Pseudomonas aeruginosa*²⁶. Mezi fluorované chinolony s rozšířeným spektrem účinku patří levofloxacin a moxifloxacin, který účinkuje proti téměř celému antimikrobnímu spektru^{14,15}. Fluorované chinolony se vyznačují rovněž protibiofilmovou aktivitou u gram negativních bakterií a setkáváme se s nimi v klinické praxi při léčbě infekcí endoprotéz²⁷.

Sulfonamidová chemoterapeutika mají bakteriostatický účinek – zabraňují syntéze kyseliny listové díky své strukturální podobnosti s kyselinou *p*-aminobenzoovou. Mají široké antibakteriální spektrum a působí proti gram pozitivním a některým gram negativním mikroorganismům. Jelikož je kyselina listová esenciální molekulou pro všechny organismy, mohou mít sulfonamidy vliv i na jednobuněčné řasy, rostliny, bezobratlé a ryby. Široké využití mají především ve veterinární praxi, v menší míře se pak používají v humánní medicíně. Mezi hlavní zástupce patří sulfaguanidin a sulfamethoxazol^{14,15,28}.

Pyrimidinová chemoterapeutika rovněž inhibují syntézu kyseliny listové, jsou také jejími strukturálními analogy. Inhibice probíhá při redukcí kyseliny dihydrolistové na kyselinu tetrahydrolistovou. Hlavními představiteli jsou pyrimetamin a trimetoprim^{14,15}.

Posledním příkladem inhibitorů syntézy nukleových kyselin jsou asanamyciny, mezi které patří rifampicin, rifaximin, rifamycin a rifabutin. Jedná se o baktericidní látky se širokospektrým účinkem. Vyznačují se nízkou toxicitou. Užívají se k léčbě tuberkulózy, malomocenství, stafylokokových infekcí a často se aplikují v kombinacích s jinými antibiotiky^{14,15}. U rifampicinu byla rovněž prokázána účinnost proti biofilmům stafylokoků a zčásti enterokoků a využívá se v klinické praxi při léčbě infekcí endoprotéz²⁷.

2.3. Antimikrobiální látky rostlinného původu

Z řady rostlin se dají získávat různé biologicky aktivní přírodní látky, které disponují antimikrobiální aktivitou. Mezi takové látky řadíme alkaloidy, saponiny, flavonoidy, kumariny, taniny, fenoly, chinony a další²⁹.

Jedním ze zástupců skupiny alkaloidů s antimikrobiální, protizánětlivým a antioxidačním účinkem je berberin. Své využití našel v léčbě střevních infekčních chorob a průjmu především v Číně a USA, je však dostupný i u nás jako doplněk stravy. V kombinaci s antibiotiky (např. neomycin) byl pozitivně hodnocen jeho účinek v několika studiích při léčbě akutního průjmu³⁰.

Další biologicky aktivní přírodní látkou je i monoterpenový fenolový derivát cymenu thymol. U této sloučeniny bylo prokázáno rovněž mnoho pozitivních účinků (antibakteriální, antiseptický apod.), díky kterým má historii využití v praxi jako jedna z možných alternativ pro čištění nemocničních povrchů nebo jako součást přípravku pro ústní hygienu společně s dalšími látkami jako eukalyptol a menthol³⁰.

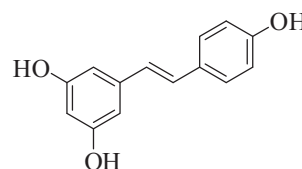
Jelikož se naše vědecká skupina do značné míry zabývá výzkumem stilbenů^{31–33} a experimentální data nám potvrzují značné antimikrobiální účinky i u těchto látek, rádi bychom více přiblížili i tuto skupinu přírodních biologicky aktivních látek.

2.3.1. Stilbeny

Jsou to zástupci fytoalexinů – neflavonoidní rostlinné polyfenolické sloučeniny. Vyznačují se především svými antimikrobiálními účinky. Základní stavební jednotkou je *trans*-substituovaný ethen s navázanými fenolovými skupinami. Hlavním stilbenem, od jehož struktury jsou odvozeny i další zástupci této skupiny, je *trans*-resveratrol (obr. 8)^{34–36}.

Kromě antimikrobiálního účinku mají stilbeny také protirakovinnou a protizánětlivou aktivitu, dále antifungální aktivitu, inhibují agregaci krevních destiček apod.³⁷. Jejich zdrojem je ovoce a zelenina³⁶. Vyskytují se v glykosylovaných formách, díky kterým mají větší stabilitu vůči oxidativní degradaci. I přesto si zachovávají svou biologickou aktivitu a antimikrobiální účinek³⁵.

V rostlinách jsou tyto látky společně také s flavonoidy a dalšími fenolickými sloučeninami syntetizovány fenylypropanoid-acetátovou cestou z aminokyseliny fenylyalaninu. Důležitá je přítomnost enzymu stilbensynthetasy (STS), díky němuž v rostlině může probíhat biosyntéza stilbenů. Zajišťuje katalýzu reakce tří jednotek malonyl-CoA a jedné jednotky *p*-kumaroyl-CoA za vzniku



Obr. 8. Strukturální vzorec *trans*-resveratrolu = 3,5,4'-trihydroxystilbenu

základní kostry stilbenů – *trans*-resveratrolu. Spouštěčem biosyntézy v rostlinách mohou být biotické či abiotické stresy (UV záření, soli, mikrobiální infekce apod.)^{35,38}.

Trans-resveratrol dále podléhá různým modifikacím za vzniku dalších stilbenů jako např. polydatin neboli piceid (glykosylace), pterostilben (metylace), pinosylvin (odstranění hydroxylové skupiny), viniferin (polymerizace) a další^{39,40}.

Resveratrol vykazuje protirakovinný a protizánětlivý, dále antimikrobiální a antioxidantní účinek s pozitivním vlivem na kardiovaskulární systém. Lze jej použít jako přírodní antibiotikum, doplněk stravy nebo v kombinaci s v praxi běžně užívanými antibiotiky^{34,41}. Mechanismem účinku je interakce s membránovými proteiny mitochondrií, čímž dochází ke změně membránového potenciálu nejprve u mitochondrií, a pak u jádra. Důsledkem je ztráta funkce některých organel, porušení buněčné membrány a v závěru až apoptóza. Tento účinek byl popsán nejen u mnoha druhů bakterií, ale i plísní a kvasinek^{42,43}.

3. Závěr

Mikrobiální biofilmy představují v mnoha odvětvích zásadní zdroj problémů a mikrobiální kontaminace. Setkáváme se s nimi napříč průmyslovou výrobou (farmacie, zemědělství, potravinářství apod.), ale i ve zdravotnictví. Jedním z možných řešení této problematiky je inhibice jejich tvorby či eradikace již vytvořeného biofilmu. Pro určité účely (např. ve zdravotnictví) však nelze využít všechny dostupné možnosti inhibice mikrobiálního biofilmu. Velký potenciál tak nabízí možnost kombinace známých a užívaných antibiotik s antimikrobiálními látkami rostlinného původu.

LITERATURA

- Mah T.-F. C., O'Toole G. A.: *Trends Microbiol.* 9, 34 (2001).
- Schindler J.: *Vesmír* 80, 203 (2001).
- Bridier A., Sanchez-Vizuet P., Guilbaud M., Piard J.-C., Naïtali M., Briandet R.: *Food Microbiol.* 45, 167 (2015).
- Riedewald F.: *Pharm. Eng.* 17, 6 (1997).
- Holá V.: *Živa* 6, 271 (2012).
- Melicharčíková V., v knize: *Sterilizace a desinfekce ve zdravotnictví*. Grada, Praha 1998.
- Russel A. D.: *Lancet Infect. Dis.* 3, 794 (2003).
- Števkovičová M., v knize: *Dezinfekcia a sterilizácia teória a prax – II*. Vrana, s.r.o, Žilina 2007.
- Bridier A., Briandet R., Thomas V., Dubois-Brissonnet F.: *Biofouling* 27, 1017 (2011).
- Stewart P. S., Rayner J., Roe F., Rees W. M.: *J. Appl. Microbiol.* 91, 525 (2001).
- Votava M.: *Lékařská mikrobiologie obecná*. 1. vyd. Neptun, Brno 2001.
- Walsh C.: *Antibiotics: Actions, Origins, Resistance*. American Society for Microbiology (ASM), Washington 2003.
- Høiby N., Bjarnsholt T., Givskov M., Molin S., Ciofu O.: *Int. J. Antimicrob. Agents* 35, 322 (2010).
- Lincová D., Farghali H.: *Základní a aplikovaná farmakologie*. 2. vyd. Galén, Praha 2007.
- Lochmann O.: *Antimikrobní terapie v praxi*. 1. vyd. Triton, Praha 2006.
- Lüllmann H., Mohr K., Wehling M.: *Farmakologie a toxikologie: překlad 15., zcela přepracovaného vydání*. vyd. 2. Grada, Praha 2004.
- Jjemba P. K.: *Pharma-ecology: The Occurrence and Fate of Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment*. 2. vyd. John Wiley & Sons, Hoboken 2019.
- Lochmann O.: *Základy antimikrobní terapie*. Triton, Praha 1994.
- Bergen P. J., Landersdorfer C. B., Zhang J., Zhao M., Lee H. J., Nation R. L., Li J.: *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 74, 213 (2012).
- Falagas M. E., Grammatikos A. P., Michalopoulos A.: *Expert Rev. Anti-Infect. Ther.* 6, 593 (2008).
- Hamill R.: *Drugs* 73, 919 (2013).
- Haber J., Čermák J., Indrák K., Klener P., Marešová V., Starý J., Ryska M., Švihovec J., Vorlíček J.: *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství* 9, 294 (2003).
- Krcmery V. C.: *Med. Princ. Pract.* 14, 125 (2005).
- Ráčil Z., Kocmanová I., Weinbergerová B., Winterová J., Bohatá Š., Mayer, J.: *Farmakoterapie* 9, 199 (2005).
- Römling U., Balsalobre C.: *J. Intern. Med.* 272, 541 (2012).
- Tajovská E.: *Praktické lékařství* 9, 234 (2013).
- <https://www.infekce.cz/DoporTEP17.htm>, staženo 19. 11. 2021.
- Biaľk-Bieliňská A., Stolte S., Arning J., Uebbers U., Bösch A., Stepnowski P., Matzke M.: *Chemosphere* 85, 928 (2011).
- Gyawali R., Ibrahim S. A.: *Food Control*. 46, 412 (2014).
- Kokoška L., Klouček P., Leuner O., Nový P.: *Curr. Med. Chem.* 26, 5501 (2019).
- Kolouchová I., Maťátková O., Paldrychová M., Kodeš Z., Kvasničková E., Sigler K., Čejková A., Šmidrkal J., Demnerová K., Masák J.: *Folia Microbiol.* 63, 261 (2018).
- Vaňková E., Paldrychová M., Kašparová P., Lokočová K., Kodeš Z., Maťátková O., Kolouchová I., Masák J.: *World J. Microbiol. Biotechnol.* 36, 1 (2020).
- Kodeš Z., Vrublevskaya M., Kulišová M., Jaroš P., Paldrychová M., Pádrová K., Lokočová K., Palyzová A., Maťátková O., Kolouchová I.: *Microorganisms* 9, 2391 (2021).
- Nollet L. M. L., Toldrá F.: *Handbook of Analysis of Active Compounds in Functional Foods*. CRC Press, Boca Raton 2012.
- Flamini R., Mattivi F., Rosso M. D., Arapitsas P., Bavaresco L.: *Int. J. Mol. Sci.* 14, 19651 (2013).
- Kolouchová I., Melzoch K., Šmidrkal J., Filip V.: *Chem. Listy* 99, 492 (2005).

37. De Rosso M., Bavaresco L., De Marchi F., Dalla Vedova A., Panighel A., Gardiman M., Flamini R.: *Nutr. Aging* 2, 179 (2014).
38. Jeandet P., Delaunois B., Aziz A., Donnez D., Vasserot Y., Cordelier S., Courot E.: *J. Biomed. Biotechnol.* 2012, 579089 (2012).
39. Yadav M. K., Mailar K., Masagalli J. N., Chae S. W., Song J. J., Choi W. J.: *Front. Pharmacol.* 2019, 890.
40. Chong J., Poutaraud A., Hugueney P.: *Plant Sci.* 177, 143 (2009).
41. Yang X., Li X., Ren J.: *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* 14, 806 (2014).
42. Chalal M., Klinguer A., Echairi A., Meunier P., Vervandier-Fasseur D., Adrian M.: *Molecules* 19, 7679 (2014).
43. Lee J., Lee D.: *Curr. Microbiol.* 70, 383 (2015).

Z. Kodeš, A. Čejková, and I. Kolouchová (*Institute of Biotechnology, University of Chemistry and Technology, Prague*): **Possibilities of Microbial Biofilm Inhibition**

Microbial biofilm is a major source of problems and microbial contamination across the industrial production, for example in pharmacy, agriculture or food industry, but also in healthcare. One of the possible solutions to this problem is the inhibition of its formation or eradication of the already formed biofilm. There are many ways to achieve this goal. This review article focuses on the use of chemical disinfectants, antibiotics or biologically active natural substances.

Keywords: biofilm, inhibition, disinfection, antibiotics, stilbenes

● Kodeš Z., Čejková A., Kolouchová I.: *Chem. Listy* 116, 335–342 (2022).

● <https://doi.org/10.54779/chl20220335>

METODY SLINOVÁNÍ ZA ASISTENCE ELEKTRICKÉHO POLE/PROUDU

TADEÁŠ WANGLE^a, MONIKA VILÉMOVÁ^b
a VÁCLAV TYRPEKL^a

^a Katedra anorganické chemie, Přírodovědecká fakulta,
Univerzita Karlova, Hlavova 2030/8, 128 43 Praha 2,

^b Oddělení materiálového inženýrství, Ústav fyziky plazma-
tu, Akademie věd České republiky, v.v.i., Za Slovankou
1782/3, 182 00 Praha 8

vaclav.tyrpekl@natur.cuni.cz

Došlo 2.9.21, přijato 6.2.22.

Klíčová slova: slinování za asistence elektrického pole,
mikrostruktura, slinování SPS, slinování Flash

• <https://doi.org/10.54779/chl20220343>

Obsah

1. Úvod
2. Slinování elektrickým výbojem
3. Metoda SPS
4. Slinování Flash
5. Závěr

1. Úvod

Slinování je téměř stejně staré jako sama civilizace. Je známo především z výroby keramiky a porcelánu, kdy při žíhacím cyklu dochází ke ztuhnutí materiálu a růstu jeho zrn. Přímá aplikace elektrického proudu byla k slinování využita již na začátku dvacátého století. V roce 1906 Lux¹ využil Jouleova tepla k odporovému slinování wolframových a molybdenových drátů elektrickým proudem. Krátce poté v roce 1912 Weintraub a Rush² ukázali, že externím ohřevem lze zvýšit vodivost a odporově slinovat málo vodivé nebo nevodivé materiály jako B, B₄C nebo SiC. Zavedením odporového slinování se zvýšila dostupnost jinak obtížně slinujících materiálů a metoda byla intenzivně studována od dvacátých do čtyřicátých let dvacátého století. V té době to byla jedna z nejjednodušších metod, kterými lze dosáhnout teplot až 2000 °C (cit.²) nebo 2500 °C (cit.³). V padesátých letech se odporové slinování rozmohlo, jelikož svou rychlostí umožňovalo slinování reaktivních kovů, jako je titan či zirkonium na vzduchu⁴. Kvůli omezenému uplatnění na reaktivních kovech a nedostupnosti komerčních přístrojů (i v moderních publikacích vystupují přístroje určené pro svařování elektrickým odpo-

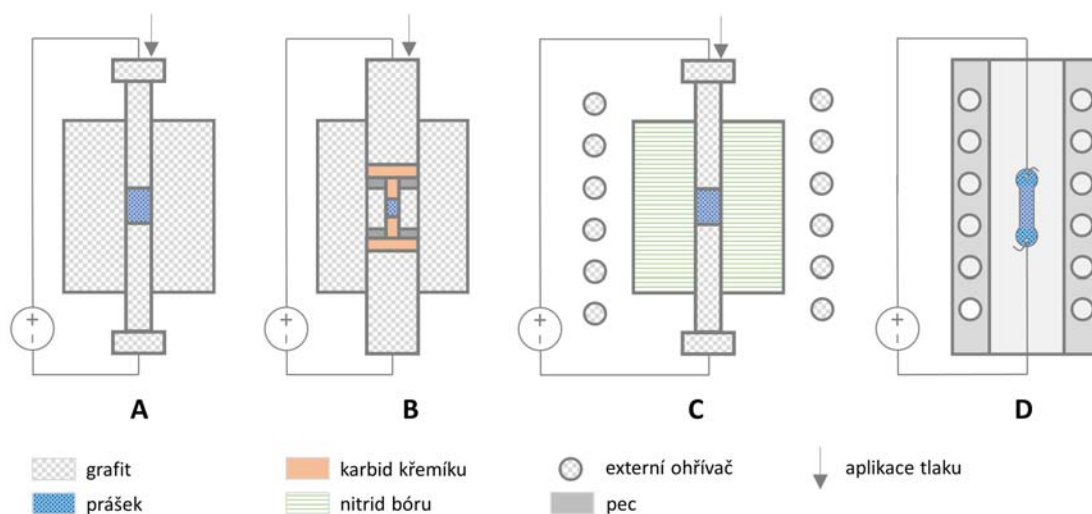
rem⁵) je odporové slinování zajímavé spíše z historického než z praktického hlediska.

Obtížně dosažitelné podmínky rychlého slinování vedly v třicátých letech G. F. Taylor⁶ k radikální změně zdroje elektrického proudu. Místo běžného zdroje využil kondenzátory, a tím značně zvýšil hustotu proudu a zavedl metodu „slinování elektrickým výbojem“. Pomocí vybíjení kondenzátorů lze dosáhnout velkých proudových hustot, které vyžadují dobře vodivé materiály. Ty pak slinují velmi rychle bez potřeby vnějšího ohřevu.

V šedesátých letech Inoue⁷ položil základy dnes nejrozšířenější metody slinování aplikací elektrického proudu: metodu SPS (z angl. Spark Plasma Sintering). Záměrnou střídavého proudu za stejnosměrný změnil tvar elektrického signálu z kontinuálního na pulzy. Krátce na to začala v Lockheed Missiles and Space Co. velkovýroba beryliových součástí na základě této technologie⁸. Metoda se však dočkala širšího uplatnění až na konci osmdesátých let. V té době začala Sumitomo Coal Mining Company prodávat laboratorní prototypy slinující pomocí pulzů stejnosměrného proudu⁹. Začátkem devadesátých let pak začala Sumitomo prodávat plně komerční přístroje⁹ a od té doby nachází metoda široké uplatnění, zprvu hlavně v Japonsku (ještě v roce 2009 pocházela největší část vědecké práce v oblasti SPS z Japonska¹⁰). Přestože metoda zpočátku byla omezená jen na vodivé materiály, dnes se úspěšně aplikuje k rychlému slinování celé škály materiálů, včetně elektricky nevodivých.

V roce 2008 Cologna, Rashkova a Raj¹¹ plně slinovali ZrO₂ stabilizovaný Y₂O₃ při 850 °C během několika sekund po spuštění napětí. Na základě jejich poznatků se rozvíjí nejmladší z metod slinování s aplikací elektrického pole/proudu: metoda Flash slinování (FS). Raj a spol.¹² se v prvním patentu na FS omezili na materiály, jejichž vodivost roste nelineárně s teplotou. Dnes lze však metodu aplikovat na širší škálu (převážně keramických) materiálů s nižší vodivostí. Na Flash slinování lze využít zdroje stejnosměrného nebo střídavého, lineárního nebo pulzního proudu k velmi rychlému slinování materiálů, vyžaduje však vyšší napětí než SPS a relativně vysoké výkony.

V dnešní době se tato disciplína dynamicky rozvíjí. Lze ale říci, že se v literatuře ustálilo několik konfigurací těchto technik. Ty jsou schematicky vyobrazeny na obr. 1. Hlavní rozdíl mezi klasickou SPS a novější variantou FS, je použití grafitových zápustek, nižšího napětí (~ 10 V na grafitové části) a velkých proudů (~ kA) u SPS (obr. 1A). FS je oproti tomu většinou bez zápustky, prášek je slinovaný do tvaru psí kosti, nebo jiného tvaru s konstantním průřezem. Elektrické pole je u FS přímo přivedeno na vzorek a nabývá až 1000 V cm⁻¹ (obr. 1D). Nově přibývá prací, které používají kombinaci výše zmíněných technik, souhrnně nazývaných Flash SPS (obr. 1C).



Obr. 1. Schematické vyobrazení technik slinování za asistence elektrického pole/proudu, A) klasická SPS (Spark Plasma Sintering), B) Vysokotlaká varianta SPS tzv. HSPS (High Pressure Spark Plasma Sintering), C) Flash slinování se současnou aplikací externího tlaku podobně jako je tomu v konfiguraci SPS, tzv. FSPS (Flash Spark Plasma Sintering), D) klasická konfigurace experimentu Flash slinování bez aplikace tlaku, tzv. FS (Flash Sintering)

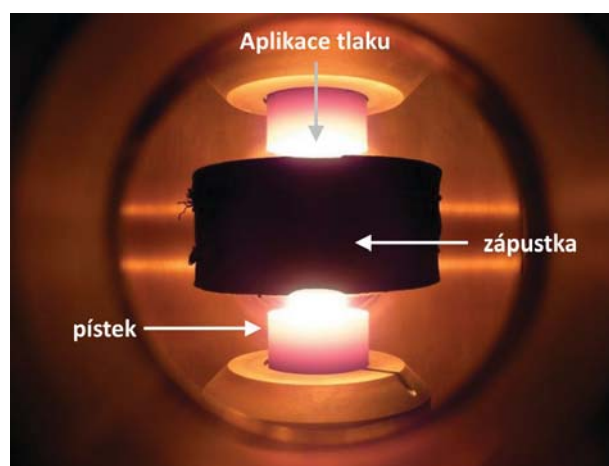
2. Slinování elektrickým výbojem

Při slinování elektrickým výbojem je nutno uzavřít prášek v nevodivé trubici mezi elektrodami. Výboj v krátké době vnáší do prášku velké množství elektrické energie z kondenzátoru. Vysoký proud výboje vyžaduje vodivé materiály, nejlépe železo a oceli, ale také lze využít např. i měď, nikl, olovo nebo wolfram¹³. První odezva je odstranění oxidické vrstvy na povrchu kovu a z toho plynoucí zvýšení vodivosti. Částice začnou slinovat a propojí se. Toto vytvoří preferovanou vodivou dráhu a způsobí převážně propojení ve směru toku proudu¹⁴. Vysoké magnetické pole může u magnetických materiálů způsobit smrštění k ose a takto lépe slinovat také ve směru kolmo na tok proudu^{14,15}. K tomuto lze využít jen výboje v jistém rozmezí proudových hustot, dostatečně vysokého ke generaci silného pole, ale dostatečně nízkého, aby došlo ke smrštění. Propojení částic značně zpevní slinovaný kompakť oproti stlačenému kompakťu o stejné hustotě¹⁵. Metoda je vhodná pro kostní nebo zubní implantáty na bázi titanu¹⁶ a jiné aplikace, které vyžadují porézní kompakty. Pro dosažení vysokých hustot je potřeba použít stlačený kompakť o vysoké hustotě: zhruba 70–80 % pro Nb-Al slitinu¹⁷, titan¹⁸, cín¹⁸ a zinek¹⁸.

3. Metoda SPS

SPS lze využít k slinování celé řady materiálů rychleji a za nižších teplot než tradiční slinování (kalcinační cyklus). Prášek je současně zahříván a stlačován během slinování. Proudů (běžně jednotky kA) o nízkém napětí (do 10 V) tečou především přes grafitovou zápustku (obr. 2),

ve které se prášek nachází. Záleží na elektrické vodivosti prášku, zda a kolik proudu proteče práškem/vznikajícím kompaktem. SPS konfigurace umožňuje velmi rychlý ohřev až $1000\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$. Grafitová zápustka určuje dosažitelné tlaky a teploty (až 100 MPa a 2500 $^{\circ}\text{C}$). U vodivých materiálů existuje částečný tok proudu přes prášek/kompakť, u nevodivých materiálů se předpokládá tok přes zápustku¹⁹. Stejný proud v SPS může také vyvolat elektrochemické změny. U kovů, jako je molybden²⁰ nebo wolfram²¹, dochází ke tvorbě karbidů reakcí se zápustkou, zatímco u oxidů (ceru²², zirkonia²³ nebo uranu²⁴) dochází k redukci pomocí elektrického pole. Po slinování se redu-



Obr. 2. Grafitová zápustka a prostor vzorku v zařízení SPS při vysoké teplotě

kovaná fáze např. Ce^{III} v CeO_2 (cit.²²) a U^{IV} v UO_{2+x} (cit.²⁴) nachází převážně u katody.

Je vhodné využít SPS tam, kde pomáhá vyšší rychlost ohřevu a nižší teploty cyklů. Rychlé ohřevy umožňují např. zachování malých zrn²⁵, nebo také předejít pomalejší kinetiku některých fázových rozpadů, zatímco rychlé chlazení v SPS umožňuje např. zachování dané fáze připravené při vysoké teplotě²⁶. Snížené teploty slinování umožňují slinovat materiály, které jsou jinak tepelně citlivé. Toto je důležité pro kombinace obtížně slinující keramiky s nízkotající látkou (např. CsI , cit.²⁷) nebo rozkládající se látkou (diamant na grafit²⁸). V takovýchto případech nachází SPS významné uplatnění i přes komplikace, které mohou vzniknout z elektrochemických změn nebo kontaminace grafitem ze součástek.

Zvýšením tlaku lze v SPS podpořit slinování na úkor růstu zrn. Toto zvýšení je však omezeno komponenty zařízení, jelikož s běžnými grafitovými součástkami lze dosáhnout tlaku jen cca 100 MPa. Pístky z jiných materiálů (např. molybden²⁹ nebo SiC ³⁰) umožní slinování při vyšších tlacích. Častěji se však používá méně materiálově a technologicky náročná vysokotlaká vložka, která se skládá z vysokotlakých pístků a grafitové zápustky vložené do běžné grafitové zápustky (obr. 1B). Protože (vnější) grafitová zápustka může zajistit ohřev, lze použít jak vodivé (WC (cit.^{31,32}) nebo kompozity z uhlíkových vláken³³), tak nevodivé (SiC , cit.³³) vysokotlaké pístky. Pomocí této konfigurace dosahující běžně 400–500 MPa (cit.^{31–33}) lze dosáhnout vysokých hustot za jinak teplotně šetrných podmínek. Takto lze např. zachovat nanometrickou velikost zrn^{33,34} kompaktu, zajistit průhlednost monolitu^{31,32}, nebo vytvořit monolity obsahující tepelně náchylné materiály.

4. Slinování Flash

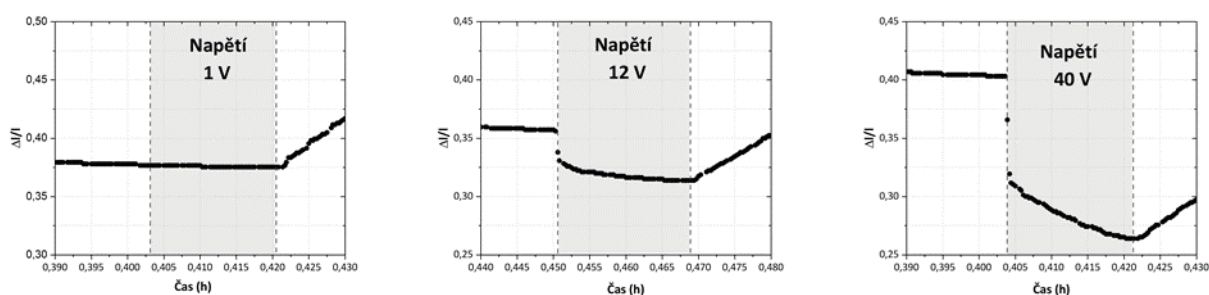
Při dostatečně vysokém napětí ($10\text{--}1000\text{ V cm}^{-1}$, s výkonem $10\text{--}1000\text{ W cm}^{-3}$) dochází k urychlení slinování jistých materiálů. Jedná se o keramické materiály s dostatečnou vodivostí, jako jsou iontové (dopované ZrO_2

(cit.¹¹), dopované Al_2O_3 (cit.³⁵), nebo nestechiometrické UO_{2+x} (cit.³⁶) nebo elektronové (Co_2MnO_4 (cit.³⁷)) vodiče a neoxidické materiály jako SiC (cit.³⁸). Během slinování dochází k jevu Flash³⁹, který se skládá z:

- dramaticky rostoucí rychlosti ohřevu Jouleovým teplem,
- snížení elektrického odporu,
- světelného záblesku.

Příklad dilatometrických křivek je vyobrazen na obr. 3 pro Gd^{3+} dopovaný CeO_2 . Podmínky, za kterých jev Flash probíhá, jsou dané vlastnostmi kompaktu. Hrají zde roli nejen vlastnosti materiálu, z něhož se kompakty skládá, ale také rozhraní zrn v kompaktu. Na rozhraní pravděpodobně dochází k přednostnímu ohřevu, snížení odporu a urychlení difuze⁴⁰. Zvýšení teploty rozhraní zrn lze pozorovat u $\text{K}_{0,5}\text{Na}_{0,5}\text{NbO}_3$, jehož rozhraní je po slinování Flash obohaceno o níže tající KNbO_3 (cit.⁴¹). Jevo Flash probíhá i v monokrystalech, které rozhraní zrn nemají, ale teplota potřebná k jeho iniciaci je značně vyšší než v práškových kompaktech⁴².

Pro každý materiál existuje kombinace teploty (tj. vodivosti) materiálu a napětí (el. pole), nad kterou je možné slinování Flash provést. Pod touto hranicí napětí podporuje přítomnost elektrického pole slinování jen velmi omezeně. Nízké napětí potlačuje růst zrn, ale tím snižuje teplotu slinování jen o několik stupňů⁴³. Pro praktické využití by měla být dolní hranice napětí nebo teploty pro Flash o něco vyšší než minimální hodnoty pro daný materiál, aby slinování probíhalo dostatečně rychle. Příliš dlouhé zdržení vede k přednostnímu slinování středu kompaktu, kde je nižší odvod tepla než na okrajích kompaktu. Rozdíl teplot středu a okraje je úměrný tloušťce kompaktu. Nerovnoměrné slinování může také způsobit nehomogenní složení nebo nehomogenní rozložení porozity kompaktu⁴⁴. Lépe slinovaná část má oproti zbytku kompaktu vyšší vodivost a proud poteče převážně přes tuto preferenční vodivostní dráhu. V okolí této dráhy dojde k přehřívání a v mnoha případech i tání. Ztuhnutím roztavených částí vznikne nežádoucí mikrostruktura s mnoha dutinami^{39,44}.



Obr. 3. Příklad dilatometrických křivek Flash SPS slinování Gd dopovaného CeO_2 při 500 °C (cit.⁴⁷), které prokazují vliv elektrického pole/proudu na zhuštění materiálu. Šedý prostor naznačuje dobu aplikace napětí na grafitové elektrody. Při 1 V prakticky nenastává změna, při 12 V je už viditelné smršťování vzorku, které je velmi výrazné při 40 V. Pozitivní změna délky vzorku po ukončení napětí je dána snížením tlaku (ze 70 MPa na pouze kontaktní tlak)

Přístroje určené pro SPS lze také použít pro Flash odstranění vodivé dráhy skrz zápusťku, buď zcela bez zápusťky⁴⁵ nebo odizolováním zápusťky (např. nástřikem BN)⁴⁶. Nevýhodou je, že SPS přístroje běžně dosahují jen nízkých napětí. Toto omezuje uplatnění na tenké geometrie, u kterých lze dosáhnout dostatečné hodnoty $V\text{ cm}^{-1}$. Dnes začínají být dostupné smíšené přístroje Flash-SPS (cit.⁴⁷). Hlavním rozdílem je napětí přístroje, které je mnohem vyšší než v klasickém SPS. Výměnou grafitové zápusťky za BN zápusťku (obr. 1D) a zapojením externího ohřevu lze přístroj využít pro FS. Na rozdíl od ostatních Flash uspořádání, Flash-SPS probíhá pod tlakem.

5. Závěr

Slinování za asistence elektrického pole/proudu je nový, dynamicky se rozvíjející obor spadající do materiálových věd. Má několik výhod oproti klasickému slinování. Zpravidla je značně rychlejší a méně energeticky náročné. Umožňuje připravit řadu zajímavých materiálů, buď díky vlivům elektrického proudu, extrémně rychlému ohřevu nebo díky šetrnějším podmínkám, které tyto metody zprostředkovávají. Není však určené jen pro exotické vysokoteplotní materiály, směsi materiálů nebo neobvyklé mikrostruktury, ale i pro rychlou přípravu konvenčních materiálů. Je vhodné také pro přípravu prototypů a pro jiné užití, které vyžaduje rychlou zpětnou vazbu.

Tato práce byla podpořena grantem GA ČR (číslo grantu: 20-20936Y), Mikrostrukturní a chemické efekty při bleskovém slinování žáruvzdorných oxidů.

LITERATURA

- Lux J.: CH 35994 (1906), DK 8621 (1906), FR 374543 (1907); Bloxam A. G. (Lux J.): GB 9020 (1906), GB 27,002 (1906).
- Weintraub G., Rush H.: US 1,071,488 (1912).
- Duval d'Adrian A. L.: US 1,430,724 (1922).
- Lenel F. V.: J. Met. 7, 158 (1955).
- Montes J. M., Rodríguez J. A., Cuevas F. G., Cinats J.: J. Mater. Sci. 46, 5197 (2011).
- Taylor G. F.: GB 385,629 (1932), US 1,896,853 (1933), US 1,896,854 (1933).
- Inoue K.: US 3,241,956 (1966), US 3,250,892 (1966), US 3,340,052 (1967).
- Boesel R. W., Jacobson M. I., Yoshioka I. S.: Mater. Eng. 70, 32 (1969).
- Tokita M.: J. Soc. Powder Technol., Jpn. 30, 790 (1993).
- Orrù R., Licheri R., Locci A. M., Cincotti A., Cao G.: Mater. Sci. Eng., R 63, 127 (2009).
- Cologna M., Rashkova B., Raj R.: J. Am. Ceram. Soc. 93, 3556 (2010).
- Raj R., Cologna M., Geromal Prette A. L., Sglavo V. M., Francis J.: US 8,940,220 B2 (2015).
- Williams D.J., Johnson W.: Powder Metall. 25, 85 (1982).
- Alp T., Al-Hassani S. T. S., Johnson W.: J. Eng. Mater. Technol. 107, 186 (1985).
- Johnson W., Clyens S., Al-Hassani S. T. S.: Metall. Met. Form 43, 382 (1976).
- An Y. B., Lee W. H.: Mater. Chem. Phys. 95, 242 (2006); Okazaki K., Lee W.H., Kim D. K., Kopczyk R. A.: J. Biomed. Mater. Res. 25, 1417 (1991).
- Okazaki K.: Mater. Sci. Eng., A 287, 189 (2000).
- Rajagopalan P. K., Desai S. V., Kalghatgi R. S., Krishnan T. S., Bose D. K.: Mater. Sci. Eng., A 280, 289 (2000).
- Anselmi-Tamburini U., Gennari S., Garay J. E., Munir Z. A.: Mater. Sci. Eng., A 394, 139 (2005).
- Mouawad B., Soueidan M., Fabrègue D., Buttay C., Bley V., Allard B., Morel H.: Metall. Mater. Trans. A 43, 3402 (2012).
- O'Brien R. C., Jerred N. D.: J. Nucl. Mater. 433, 50 (2013).
- Prasad A., Malakkal L., Bichler L., Szpunar J.: *Processing, Properties, and Design of Advanced Ceramics and Composites II: Ceramic Transactions, Volume 261* (Bansal N. P., Castro R. H. R., Jenkins M., Bandyopadhyay A., Bose S., Bhalla A., Singh J. P., Mahmoud M. M., Pickrell G., Johnson S., ed.), str. 217. The American Ceramic Society, Hoboken 2017.
- Zhang H., Kim B.-N., Morita K., Yoshida H., Lim J.-H., Hiraga K.: J. Am. Ceram. Soc. 94, 2981 (2011).
- Tyrpekl V., Naji M., Holzhäuser M., Freis D., Prieur D., Martin P., Cremer B., Murray-Farthing M., Cologna M.: Sci. Rep. 7, 46625 (2017).
- Stanciu L. A., Kodash V. Y., Groza J. R.: Metall. Mater. Trans. A 32A, 2633 (2001).
- Zhang F., Reich M., Kesser O., Burkel E.: Mater. Today 16, 192 (2013).
- Wangle T., Tyrpekl V., Cologna M., Somers J.: J. Nucl. Mater. 466, 150 (2015).
- Chen Z., Subhash G., Tulenko J. S.: Nucl. Eng. Des. 294, 52 (2015).
- Papynov E. K., Shichalin O. O., Mironenko A. Yu., Ryakov A. V., Manakov I. V., Makhrov P. V., Buravlev I. Yu., Tananaev I. G., Avramenko V. A., Sergienko V. I.: Radiochemistry (Moscow, Russ. Fed.) 60, 362 (2018).
- Takegawa K., Wen C., Uekawa N., Kojima T.: Key Eng. Mater. 617, 72 (2014).
- Grasso S., Kim B.-N., Hu C., Maizza G., Sakka Y.: J. Am. Ceram. Soc. 93, 2460 (2010).
- Grasso S., Yosida H., Porwal H., Sakka Y., Reece M.: Ceram. Int. 39, 3243 (2013).
- Anselmi-Tamburini U., Garay J. E., Munir Z. A.: Scr. Mater. 54, 823 (2006).
- Tyrpekl V., Cologna M., Vigier J.-F., Cambriani A., De Weerd W., Somers J.: J. Am. Ceram. Soc. 100, 1269 (2017).
- Cologna M., Francis J. S. C., Raj R.: J. Eur. Ceram. Soc. 31, 2827 (2011).
- Raftery A. M., Pereira da Silva J. G., Byler D. D., Andersson D. A., Uberuaga B. P., Stanek C. R., McClellan K. J.: J. Nucl. Mater. 493, 264 (2017).

37. Prette A. L. G., Cologna M., Sglavo V., Raj R.: *J. Power Sources* 196, 2061 (2011).
38. Zapata-Solvas E., Bonilla S., Wilshaw P. R., Todd R. I.: *J. Eur. Ceram. Soc.* 33, 2811 (2013).
39. Biesuz M., Sglavo V. M.: *J. Eur. Ceram. Soc.* 39, 115 (2019).
40. Raj R., Cologna M., Francis J. S. C.: *J. Am. Ceram. Soc.* 94, 1941 (2011).
41. Corapcioglu G., Gulgun M. A., Kisslinger K., Sturm S., Jha S. K., Raj R.: *J. Ceram. Soc. Jpn.* 124, 321 (2016).
42. Zhang Y., Jung J.-I., Luo J.: *Acta Mater.* 94, 87 (2015).
43. Downs J. A., Sglavo V. M.: *J. Am. Ceram. Soc.* 96, 1342 (2013).
44. Trombin F., Raj R.: *Am. Ceram. Soc. Bull.* 93, 32 (2014).
45. Grasso S., Saunders T., Porwal H., Cedillos-Barraza O., Jayaseelan D. D., Lee W. E., Reece M. J.: *J. Am. Ceram. Soc.* 97, 2405 (2014).
46. Manière C., Lee G., Olevsky E. A.: *Sci. Rep.* 7, 15071 (2017).
47. Tyrpekl V., Cologna M., Holzhäuser M., Svora P.: *J. Am. Ceram. Soc.* 104, 793 (2020).

T. Wangle^a, M. Vilémová^b, and V. Tyrpekl^a
(^a*Department of Inorganic chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague,* ^b*Department of Materials Engineering, Institute of Plasma Physics of the Czech Academy of Sciences, Prague*): **Methods of Electrical Field/Current Assisted Sintering**

Electrical current activated sintering is generally faster and requires lower temperatures than conventional sintering. This makes sintering significantly less energy intensive, especially for high temperature materials. Electrical current activated sintering methods are also useful for preparing materials which have unusual compositions or specific microstructural features. In this review, we address various methods of electric field assisted sintering and the materials to which they are applicable.

Keywords: electrical current assisted sintering, microstructure, SPS, Flash sintering, fast sintering, Joule heating

- Wangle T., Vilémová M., Tyrpekl V.: *Chem. Listy* 116, 343–347 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220343>

Acknowledgements

This work was supported by grant from the Czech Science Foundation (GACR) (Grant number: 20-20936Y), Microstructural and chemical effects during flash sintering of refractory oxides.

MARCEL PROUST: HLEDÁNÍ CHEMIE V JEHO DÍLE. AUTOR A JEHO VELKÝ CHEMICKÝ ROMÁN

Věnováno 100. výročí narození pana prof. RNDr. PhMr. Jaroslava Zýky, Dr.Sc.

KAREL NESMĚRÁK^a a RADEK CHALUPA^{b,c}

^a Katedra analytické chemie, ^b Katedra učitelství a didaktiky chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Hlavova 8, 128 43 Praha 2, ^c RCC Europe, Václavské nám. 66, 110 00 Praha 1
karel.nesmerak@natur.cuni.cz

Došlo 5.2.22, přijato 18.2.22.

Klíčová slova: didaktika chemie, chemofobie, identita chemiků, krásná literatura, Proustův efekt, veřejný obraz chemie

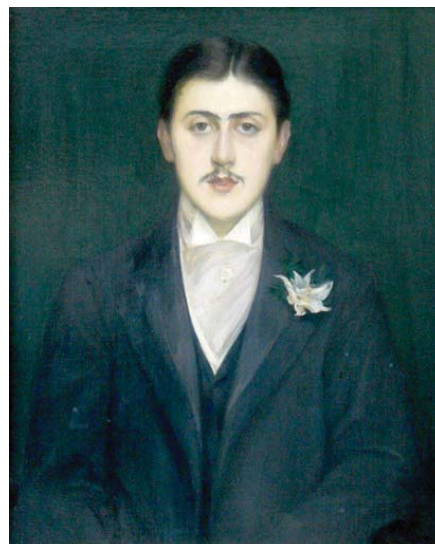
• <https://doi.org/10.54779/chl20220348>

Obsah

1. Úvod
2. Proustův život a literární dílo
3. Díla z počátků Proustovy tvorby
4. Hledání ztraceného času
 - 4.1. Chemické látky jako podněty vzpomínání
 - 4.2. Chemie jako věda
 - 4.3. Chemické procesy jako metafora
 - 4.4. Chemické látky jako léčiva
5. Chemici a Proust
6. Závěr

1. Úvod

Přes veškerou autorovu obrazotvornost, jeho vypravěčský a fabulační um, je každé literární dílo nutně ovlivněno dobou, v níž vzniklo. U příležitosti 100. výročí úmrtí francouzského spisovatele Marcela Prousta (obr. 1), který je považován za jednoho z nejvlivnějších autorů 20. století a jehož monumentální román *À la recherche du temps perdu* (Hledání ztraceného času) je přední součástí světového literárního kánonu, se vhodně naskýtá otázka, jak se nejen v tomto, ale v celém Proustově díle a životě zrcadlí chemie. Otázka je tím zajímavější, že na Proustův sedmidílný opus doslova přísahají lidé humanitního zaměření, kteří z velké většiny zaujímají k chemii negativní stanovisko¹. Tito lidé zároveň vystavili doslova každý okamžik spisovatelova života pečlivému zkoumání. Máme tak k dispozici například i vzpomínky jeho hospodyně Céleste Albaretové², jeho švédského komorníka Ernesta A. Forssgrena³ a od nedávna také sebranou korespondenci mezi Proustem a manželkou zubaře⁴ z jeho domu na Boulevard Haussmann 102



Obr. 1. Marcel Proust na obraze Jacquesa-Émile Blanche z roku 1892

v Paříži. Ta se však pro mnohé ukázala být velkým zklamáním. Ve většině z dopisů si Proust stěžuje na hluk, který působí vrtačka jejího manžela.

Navíc, jak jsme dříve navrhli^{5,6}, lze zrcadlení chemie v krásné literatuře využít jako jeden z prostředků, jak přiblížit chemii laikům, zejména studentům, a působit tak proti stále vzrůstající chemofobii, ohrožující úspěšnou budoucnost chemie (princip jsme detailně využili v případě jiného proslulého literáta, Johanna Wolfganga von Goethe^{7,8}). Přestože je Proustovo jméno v publikacích věnovaných vztahu krásné literatury a chemie zmiňováno^{9–13}, vytčená problematika nebyla dosud zpracována v rozsahu, jaký podáváme v tomto sdělení.

2. Proustův život a literární dílo

Podrobné, z různých úhlů pojaté zpracování Proustova života pokrývá celá řada biografii, z nich vyniká obsáhlé Tadiého dílo, dostupné i v češtině¹⁴. Proto se můžeme omezit jen na základní údaje. Marcel Proust se narodil 10. července 1871 na pařížském předměstí Auteuil do dobře situované, vysoce kultivované středostavovské rodiny. Otec, Adrien Achille Proust (1834–1903), byl lékařem se zaměřením na epidemiologii a hygienu a profesorem lékařské fakulty Université de Paris¹⁵. Pro tuto svoji činnost je zmiňován i ve slavném Márquezově románu *Láska za časů cholery*. Hlavní vliv na formaci Marcelovy osobnosti měla bezesporu jeho matka Jeanne Clémence, rozená Weilová (1849–1905). Té se dostalo nejen na tu dobu vynikajícího vzdělání (hovořila latinsky, anglicky, německy), ale byla

i vášnivě oddána literatuře a kultuře, a se synem ji pojilo extrémně silné pouto. Konečně významným členem rodiny byl i Proustův mladší bratr Robert Emile (1873–1935)¹⁶, věnující se rovněž lékařskému povolání, který se navíc zasloužil i o dokončení vydání Marcelova nejslavnějšího díla.

Proustovo dětství bylo poznamenáno řadou chorob, zejména rozvinutím astmatu, které ho sužovalo po celý život. Od roku 1882 navštěvoval renomované Lycée Condorcet, kde vynikal především v literatuře, v níž se pokoušel i o první vlastní tvorbu, uveřejňovanou v měsíčníku *Le Banquet*. V letech 1889–1890 absolvoval vojenskou službu a pak studoval na pařížské École libre des sciences politiques, kterou absolvoval roku 1895. O rok později vydává tiskem svoji první knihu *Les Plaisirs et les Jours* (Radosti a dny, česky poprvé roku 1927), která se ale nedočkala velkého ohlasu.

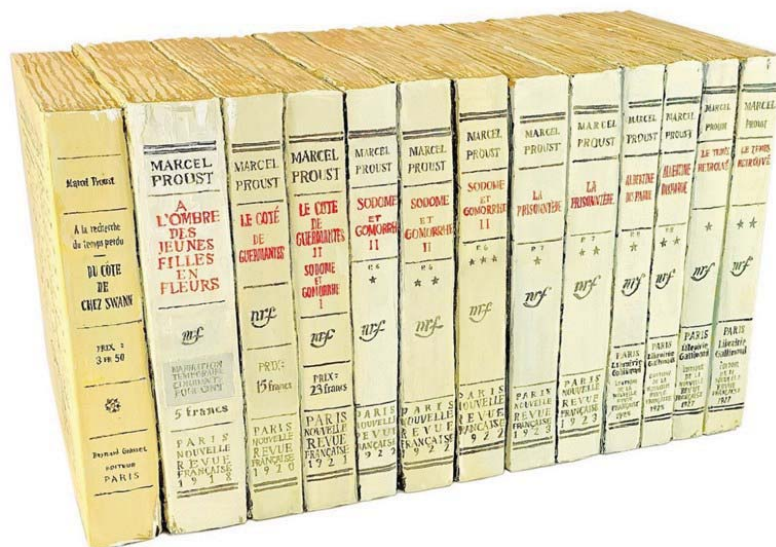
Díky finančnímu zajištění od své rodiny nebyl Proust nucen hledat zaměstnání, a mohl se věnovat literatuře a bohatému společenskému životu, což obě zúročil ve vlastní tvorbě. Tak v letech 1895 až 1900 pracoval na částečně autobiografickém románu *Jean Santeuil*, který ale nedokončil. Ten proto vyšel až posmrtně roku 1952 (česky pod stejným názvem roku 2009). Posthumně vyšel i soubor Proustových esejů *Contre Sainte-Beuve* (česky *Eseje. Zamyšlení nad Sainte-Beuvem*, poprvé roku 1968).

Těsně po přelomu 19. a 20. století se Proust několik let věnoval překladu děl anglického spisovatele Johna Ruskina do francouzštiny (česky vyšla roku 1999 Proustova předmluva k těmto překladům pod názvem *Dnové četby*) a rovněž cestoval po Evropě. Roku 1919 publikuje pod názvem *Pastiches et mélanges* (Napodobeniny a směsi, česky dosud nevydáno) soubor svých novinových článků otiskovaných ve vlivném pařížském deníku *Le Figaro*.

Na svém životním díle *À la recherche du temps perdu* (Hledání ztraceného času; obr. 2) začal Proust pracovat

roku 1909. Pro senzitivního spisovatele to bylo období po smrti rodičů, poznamenané i pobytem v nervovém sanatoriu a zhoršením jeho četných onemocnění. Přesto se mu podařilo vytvořit rozsáhlé, strhující dílo, zahrnující přes dvě stovky postav, obdivované nejen literárním světem^{17,18}. Tiskem vycházelo od roku 1913, a ačkoliv vydání prvního dílu *Du côté de chez Swann* (Svět Swannových) musel autor financovat sám, již druhý díl *À l'ombre des jeunes filles en fleurs* (Ve stínu kvetoucích dívek) vychází v prestižním nakladatelství Gallimard roku 1919 a vzápětí je mu uděleno nejprestižnější francouzské literární ocenění, Goncourtova cena. Vysoké nasazení, které bylo pro dokončení rozsáhlého díla nezbytné, si na autorovi vyžádalo svoji daň a 18. listopadu 1922 zcela vyčerpaný Marcel Proust umírá ve svém pařížském bytě. O tři dny později je pohřben na pařížském hřbitově Père-Lachaise. Za svého života stačil vydat ještě třetí a čtvrtý díl Hledání, tedy *Le Côté de Guermantes* (Svět Guermantových) a *Sodome et Gomorrhe* (Sodoma a Gomora). Dokončení edice díla, zahrnující tři díly – *La Prisonnière* (Uvězněná), *Albertine disparue* (Uprchlá Albertina) a *Le Temps retrouvé* (Čas znovu nalezený), se ujal jeho mladší bratr Robert, poslední díl vyšel roku 1927. Českého překladu se pod názvem *Hledání ztraceného času* dočkali čtenáři již v letech 1927–1930 díky Jaroslavovi Zaorálkovi a jeho spolupracovníkům, novější překlad Prokopa Voskovce a Jiřího Pechara pochází z let 1979 až 1988.

Ačkoliv nemáme přímé doklady či jiné údaje od Prousta samotného, můžeme jeho vztah k chemii sledovat právě díky četbě jeho děl. Ve většině z nich, včetně toho nejslavnějšího, jsou chemie a chemické látky, operace a postupy poměrně bohatě zastoupeny. Vedle nich Proust používá i řadu informací z ostatních přírodních věd (k těm blíže Large¹⁹ a Luckhurst²⁰). Svoji roli tu, vedle autorova osobního zájmu o chemii a přírodní vědy, jistě hrály i jeho četné nemoci a lékařské povolání otce a bratra.



Obr. 2. První vydání *À la recherche du temps perdu* (Hledání ztraceného času) z let 1913–1927 zaujímá přes 3400 stran

3. Díla z počátků Proustovy tvorby

Proustův debut *Les Plaisirs et les Jours* (Radosti a dny) ještě chemii pomíjí, ale již v druhé jeho práci, nedokončeném románu *Jean Santeuil*, se s chemií setkáváme byť v omezeném, až stopovém množství, nicméně v zajímavých souvislostech (česky román vyšel roku 2009, cit.²¹, z tohoto vydání citujeme s přihlédnutím k francouzskému originálu). Pozoruhodná je spisovatelova narážka na schopnosti chemické analýzy (s. 293): „veselí je základní kámen každé věci, a vyvěrá z každého faktu, na nějž narazíme, a vůbec je v něm nemusíme hledat, jako nám chemická analýza ukáže, že uhlík není prvek, jež bychom museli jít hledat na měsíc, ale nalézá se v každém těle, na dosah všude tam, kde jsme, jen ho dokázat uvolnit.“ Povědomí, že prvky jsou základními stavebními kameny našeho hmotného světa, dále Proust demonstruje slovy (s. 417): „jsou složeny ze stejných prvků jako naše temné životy, ze samé substance všehomíru. A dějiny jsou jako astronomická analýza, věda odhalující složení těch nejvzdálenějších hvězd, jelikož se skládají ze stejných prvků, stejných plynů jako pěšina, po které denně kráčíme, jako tělo, v němž žijeme i jako kosti, které budou jednoho dne složeny vedle matčiných.“ V této souvislosti připomeňme vznik a rozvoj spektrální analýzy v 19. století, která umožnila vzdálenou detekci chemických prvků z hvězdného záření²². Z chemických látek se v románu setkáváme s morfiem a opiem (s. 30, 536, 559), autorovi osobně známými substancemi, přičemž upozorňuje i na snadnost vzniku závislosti, morfinismus (s. 308). Román je pro nás rovněž důkazem, že se Proust o chemii zajímal přinejmenším od roku 1895.

Chemie hraje podstatnou roli i v Proustově souboru textů *Pastiches et mélanges* (Napodobeniny a směsi), zejména v druhé části nacházíme pod názvem *L’Affaire Lemoine* (Lemoineova aféra) vylíčení soudního přelíčení, při němž byl roku 1909 francouzský podvodník Henri Lemoine odsouzen na šest let za zpronevěru jednoho milionu liber. Ty vylákal na dodnes existující společnosti De Beers pod záminkou, že objevil umělou výrobu diamantů, v té době ještě neuskutečnitelnou. Při tom se zařítivoval pracemi francouzského chemika Ferdinanda Frédérica Henri Moissana (1852–1907), nositele Nobelovy ceny za chemii za rok 1906. Detailně problematiku rozebírá Krätz^{10,23}. K celé aféře se Proust vrací ještě v VII. části zmíněného souboru a nabízí zajímavé „proroctví“ k možnosti výroby diamantů (autorský překlad podle originálu): „Jen trpělivost, lidé, trpělivost! Zítřejí opět zažehněte pícku, která už tisíckrát vyhasla, z níž jednoho dne vyjde diamant! Tak vysoce zdokonalenou pícku, že vám ji bude Věčnost závidět, kde budete moci zahřát v kelímku uhlík na teplotu, kterou dosud nezná ani Lemoine, ani Berthelot.“ V úryvku padne i jméno jednoho z nejslavnějších francouzských chemiků té doby Pierre Eugena Marcelina Berthelota (1827–1907)²⁴. Uvedená předpověď možné umělé výroby diamantů se splnila až v 50. letech 20. století, jen místo vysoké teploty bylo nutné působit vysokým tlakem²⁵.

4. Hledání ztraceného času

Do svého vrcholného díla zapojil Proust chemii na mnoha úrovních a v řadě významů, od konkrétních až k metaforickým. Mnohé z nich nebyly dosud rozkryty, nebo je jejich dešifrování a výklad předmětem diskuse. S přihlédnutím k francouzskému originálu dále citujeme z českého vydání v nakladatelství Odeon²⁶; odkazujeme na svazek (římská číslice) a stránku (arabská číslice).

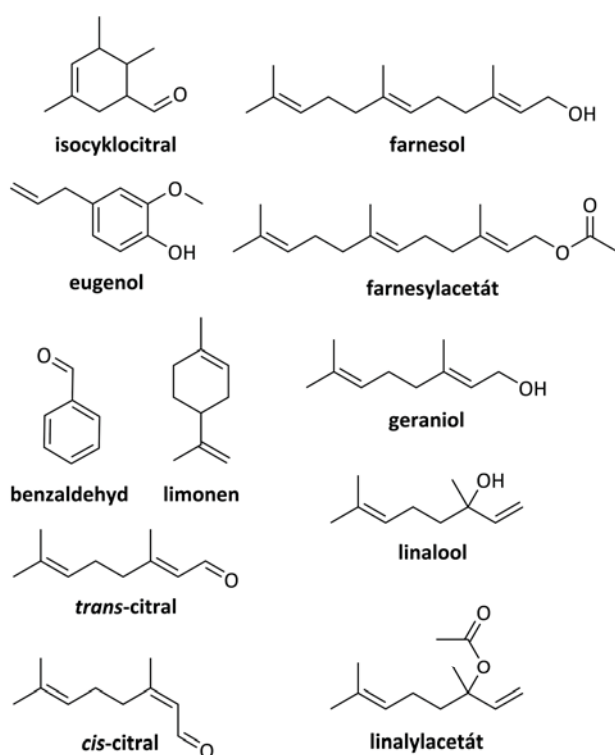
4.1. Chemické látky jako podněty vzpomínání

Jak napovídá již samotný název románu, představují vypravěčův ústřední zájem osobní vzpomínky na dětství a zážitky až do jeho dospělosti, odehrávající se v prostředí vysoké francouzské společnosti na přelomu 19. a 20. století – v éře označované dnes jako Belle Époque. Rozpomínání se a vzpomínky jsou jedním z klíčových motivů celého díla, jejichž prostřednictvím autor filozoficky pojímá plynoucí čas a smysl světa. Jako zásadní spouštěč vzpomínání – hledání ztraceného – slouží Proustovi sensorické vlivy: vůně, chuť. V tomto směru ikonickými jsou vůně lipového čaje a chuť madlenek, francouzského pečiva obsahujícího ořechy nebo mandle a citronovou kůru či levanduli, popsané v prvním díle románu (I/56): „A jakmile jsem zas poznal chuť sousta madlenky, namočené do lipového odvaru ... vše nabylo pevných tvarů a vynořilo se, město i zahrady, z mého šálku čaje.“ Případů, kdy je sensorický podnět vypravěči spouštěčem jeho vzpomínání, je ale v románu celá řada. Tento jev označuje psychologická a medicínská literatura jako *Proustův efekt* nebo *Proustův fenomén* a je mu věnována rozsáhlá literatura²⁷, včetně experimentálního ověřování^{28,29}.

Z chemického hlediska je vůně lipového čaje, která vypravěči evokuje vzpomínky, dána tékavými složkami, z nichž za charakteristické aroma zodpovídají isocyklocitral, farnesol, farnesylacetát, geraniol, eugenol a linalool (cit.^{30–32}). Typická vůně mandlí je dána zejména přítomností benzaldehydu³², jejich chuť je výslednicí celé řady chemických sloučenin³³. Vůni citronové kůry tvoří především limonen a citral, racemická směs *trans*-citralu (zvaného i geranial), a *cis*-citralu (zvaného rovněž neral)³². Konečně za vůni levandule jsou zodpovědní linalool a linalylacetát³². Nejznámější vůni světa vysoké literatury, zapsanou Proustem do jeho románu, můžeme tedy vyjádřit i chemickými strukturami, jak je uvádí obr. 3.

4.2. Chemie jako věda

Chemie se v Proustově mistrovském díle uplatňuje doslova od jeho počátku až do samého závěru. S první výslovnou zmínkou o chemii se setkáváme již na počátečních stránkách, kde autor ukazuje prolínání francouzské kultivovanosti s moderní technikou, když uvažuje o „továrních městech ... kde dělníci chemické továrny pracují mezi jemnými sochařskými díly“ (I/39). Konečně v závěru románu pak čas dokonce „svými chemickými procesy přetvořil i samu společnost“ (VI/565).



Obr. 3. Struktury hlavních chemických látek zastoupených ve vůni lipového čaje a madlenek, sensorických spouštěčích Proustova vzpomínání

Chemikova pracovna, laboratoř, je v románu uvedena hned několikrát. První zmínkou je metaforický popis vlnku, který má vypravěče zavést do Benátek (I/358): „vstoupí-li člověk po obědě do té uhelné laboratoře, do té magické kuchyně, která si bere na starost vše kolem sebe změnit.“ Francouzský originál „le laboratoire charbonneux“ připouští i překlad „začouzená laboratoř“. Podobně předpokoj Odetty de Crécy popisuje autor slovy (II/94): „a jistě bych býval méně rozčilen než při čekání v tomto salónku, kde mi připadalo, že oheň začíná transmutovat jako v kouzelnické laboratoři Klingsorově.“ Zde se Proust odvolává na postavu kouzelníka ze středověké německé skladby *Parzival*, zpopularizované operou Richarda Wagnera *Parsifal*. Ocitáme se tak i na půdě alchymie, kterou spisovatel explicitně zmiňuje v části věnované pobytu ve fiktivním lázeňském městě Balbecu, kde vypravěč při pohledu na dívky doufá, že by snad „nějaká zázračná alchymie“ (II/335) mohla způsobit vzájemné sprátení. Duševní alchymii uvádí Proust na scénu znovu v závěru svého díla (VI/373): „spojoval toto dílo v jakémsi pověřeném lpění s onou společností, která mu kdysi poskytla jeho modely, a která mu pak, když se u něho takto dík alchymii vjemů přetvořila v umělecké dílo, dala i jeho obecnost.“

Laboratoř v sobě ukrývá četné chemické látky s účinky popsanými Paracelsovským *dosis sola facit venenum* (jed definuje pouze dávka). Proust tento princip mistrně využívá v metaforickém popisu (V/396): „V této chvíli mi

právě ty dva typy Albertininy povahy vytanuly na mysl, a jeden z nich mě potěšil, druhý hluboce zarmoutil, neboť v naší paměti se najde od všeho něco; je to jakási lékárna, jakási chemická laboratoř, kde padneme nazdařbůh hned na nějaký utišující lék, hned zas na nebezpečný jed.“

Jedinou laboratorní pomůckou zmíněnou v románu je křivule, průhledná, skleněná nádoba, kterou většina dnešních chemiků už ani na vlastní oči nespatriřila. Nicméně spisovatel se tato pro dobovou laboratoř příznačná nádoba výtečně hodí pro popis (IV/107): „Dospěl k tomu stupni únavy, kdy tělo nemocného je už jen jakousi křivulí, v níž lze pozorovat chemické reakce.“

Přes množství zmínek o chemii nejsou v románu citováni žádní konkrétní chemici. Jedinou výjimkou je Proustova charakteristika, v níž novátorství a mistrovství, s nimiž vznikla Vinteuilova sonáta, fiktivní hudební skladba, která je v díle mnohokrát zmiňována, spojuje s jedním z nejslavnějších chemiků všech dob (I/322): „Ó, odvaho, snad stejně geniální, jako byla odvaha Lavoisierova, Ampérova, odvaho experimentujícího Vinteuile, objevujícího tajné zákony neznámé síly ...“ Anonymně se chemici objevují při líčení radosti paní de Cambremer nad zjištěním, že se dva prominentní hosté jejího večírku vzájemně neznají. Tato skutečnost u ní (IV/498): „vyvolala živě uspokojení a na její tváři začal pohrávat úsměv chemika, který se chystá poprvé navodit reakci mezi dvěma obzvlášť významnými látkami.“ Vhodně se Proust zmiňuje o důležitosti laboratorních deníků, když přirovnává obtížně čitelné Vinteuilovy partitury k luštění (V/266) „nějakých nečitelných sešitků, v nichž geniální chemik, nevědoucí, že smrt je tak blízka, zaznamenal objevy, které zůstanou možná navždy neznámé“.

Zásluha chemických výrob na dostupnosti mnohých látek slouží Proustovi k ironickému přirovnání (II/349): „Jestliže podobně jako chemický průmysl, dodávající velká množství hmot, které se vyskytují v přírodě jen tu a tam a velmi vzácně, také rivabellská restaurace shromažďovala v jedné a téže chvíli víc žen, u nichž mne lákaly vyhlídky na štěstí, než kolik mi jich náhoda procházek dovolovala potkat za celý rok.“

4.3. Chemické procesy jako metafora

Kromě začlenění chemie do románu jako takové, využívá Proust na mnoha místech svého díla řadu chemických procesů v metaforickém smyslu. V tomto směru se stává následovníkem mimo jiné i Johanna Wolfganga von Goethe, jehož román *Spríznění volbou* (*Die Wahlverwandtschaften*) je považován za nejpozoruhodnější příklad literárního využití chemické teorie v psychologické zápletky románu⁷. Ostatně Proust toto dílo ve svém románu i cituje (VI/206): „člověk předvede hlubokou znalost Goethových *Wahlverwandtschaften*“.

Hojně to platí především pro srážení a krystalizaci. Již na prvních stránkách románu se setkáváme s popisem vypravěčovy chlapecké záliby (I/162): „házel jsem do Vinnohy chlebové kuličky, ty pak, jak se zdálo, stačily, aby v ní vyvolaly přesycení roztoku, protože voda kolem nich se hned srážela na vejčité hrozny vyhladovělých pulců, které

do té chvíle chovala patrně rozptýlené a neviditelné, ale připravené, aby začali hned krystalizovat.“ Bravurněji však Proust využívá zmíněných jevů pro zobrazení a zachycení náhlých změn lidského chování, které se zdají být nevysvětlitelné, ale ve skutečnosti jsou výsledkem pomalého hromadění tíže působících příčin (v tom následuje Stendhal i svého oblíbeného Ruskina³⁴). Nejmarkantnější pasáž v tomto směru představuje vypravěčovo prozíání nad dopisem evokujícím jeho milovanou Albertinu, jejíž nepřítomnost mu vyvolává duševní bolest, která s jejím obrazem tvoří „une sorte de précipité comme on dit en chimie“ – v našem překladu „jistý druh sraženiny, jak říkáme v chemii“, protože české vydání nevhodně překládá „jakousi jednotnou sloučeninu, jednotný celek“ (VI/108). Zklamání v lásce, které následně hrdina románu zažívá, ho vede k úvaze (V/154): „Se začátky nějaké lži naší milenky tomu bývá stejně jako s počátky naší zamilovanosti nebo našeho sklonu k nějaké speciální aktivitě. Krystalizují, seskupují se a zůstávají přitom mimo naši pozornost.“ Tudíž podobně, jako během prvních fází krystalizace, kdy vznikající prizmata nejsou ještě okem rozeznatelná. Jinde vypravěč uvádí, že se mu neočekávaně „vynořila vzpomínka, která mi nevytanula už hodně dávno, neboť zůstávala rozptýlena v nepostižitelně měnivém a neviditelném prostranství mé paměti, z něhož teď vykryštalizovala“ (VI/84), tedy analogicky jako při náhlém porušení metastabilního stavu přesyceného roztoku. Obdobný popis nalezneme v situaci, kdy vypravěči způsobí duševní trýzeň znenadání odhalený fakt, „nepředvídaný jako náhle vykryštalizovaná chemická sloučenina“ (VI/263). Krystalizovat ale podle Prousta mohou i společenské kliky (VI/603), elegance (VI/394), rozumově zdůvodněné stížnosti (V/353), nebo sluneční záře (V/168).

Uvedenou inspiraci Stendhalem dokládá i další pasáž, v níž se vypravěč použítím duševního „chemického“ procesu zbavuje chybných asociací, které si utvořil o kněžně z Parmy (III/438): „jsem pomoci nových chemických procesů z kněžnina jména jakoukoliv fialkovou silici a jakoukoliv stendhalovskou vůni vypuzoval.“

Podobně pro odhalení skutečných záměrů své milenky Albertiny neváhá vypravěč jí vyřčené sdělení podrobit ve své mysli celé řadě chemických operací (V/89): „Urcité adverbium ..., které vyšleho z bezděčného, a někdy nebezpečného setkání dvou myšlenek, jež mluví nijak nevyjádřil, ale které jsem z tohoto adverbiuma mohl jistými vhodnými metodami analýzy nebo elektrolyzy vyextrahovat, mi toho řeklo víc než celá řeč.“ Tak hrdina románu – jak v tomto případě, tak v řadě jiných – ke svému zármutku zjišťuje, že „Albertinina slova, když se jí někdo vyptával, neobsahovala nikdy jediný atom pravdy“ (V/356). Zároveň ale Proust na jiném místě románu upozorňuje, že takový rozbor příčin chování našeho okolí nemusí být vždy úspěšný (V/323): „Chemikové mohou aspoň použít analýzy ... Ale pokud jde o překvapivé jednání našich bližních, odhalíme jeho pohnutky jen zřídka.“

Další laboratorní operaci, destilaci, umožňující oddělení jednotlivých komponent směsí, zmiňuje Proust při popisu změn hlasu vypravěčovy babičky, na němž se projevuje počínající choroba (III/137): „Byl něžný, ale jak byl

zároveň i smutný, především právě už následkem této něžnosti samé, vydestilovaný, zbavený téměř úplně jakékoli tvrdosti, jakéhokoli prvku rezistence vůči druhým, jakéhokoli sobectví, víc než který lidský hlas mohl být!“ Stejnou operaci využívá spisovatel i k popisu vzpomínky na „vydestilované jaro, které je zredukováno na svoji podstatu a vyjadřuje postupné prodlužování, oteplování a rozvíjení svých dní“ (V/418).

Chemické reakce stojí, podle Prousta, i za vysvětlením prudkých změn nálad, jako ve chvíli, kdy se hněvivá žárlivost jedné z hlavních postav, Charlese Swanna, vůči jeho milence Odettě de Crécy mění v klidnou něhu (I/281): „Tak samy chemické reakce jeho choroby působily, že když svou lásku změnil v žárlivost, začínal zas produkovat něhu k Odettě a soucit k ní.“ Maně zde chemikovi tane na mysli chemická rovnováha a Guldbergův-Waageův zákon. Podobně lze chemické reakce hledat za rozmanitostmi lidských vášní (VI/182): „Kombinace, jimiž duševní chemie takto fixuje a zneškodňuje prvky, které se stávaly příliš nebezpečnými, jsou nevyčerpatelné a jsou s to dát historii rodin vzrušující rozmanitost.“ V originálu Proust používá spojení „la chimie morale“ – jde o frázi, kterou před ním roku 1841 použil francouzský historik Jules Michelet³⁵. Spisovatel zároveň upozorňuje, že hodnoty rychlostních konstant těchto změn jsou nepochoybně veliké, neboť „se tato odhalení omylů, ty obměny představ, jež o nějaké osobě máme, dějí s okamžitostí chemických reakcí“ (II/378). A podobně, časově konkrétněji, (IV/140): „úsilí starého citu spojit se a sloučit se v jediný nerozlišitelný prvek s jiným nedávnějším citem ... zpravidla vyústí jen ve vytvoření jakési nové látky (v chemickém slova smyslu), schopné někdy existovat i jen několik vteřin.“

Vzájemná přitažlivá interakce mezi atomy, ústící ke snížení celkové energie systému a vzniku chemické vazby, slouží Proustovi k vysvětlení nečekaných sympatií, které autokratická paní Verdurinová projevuje k vypravěči (II/166): „Máte s ní asi,“ řekla mi lékařova žena, „nějaké společné atomy, které se přitahují.“ Naopak zánik chemické vazby je pro Prousta prostředkem, jímž popisuje vypravěčovu deziluzi ze setkání s knížetem d'Agriente, bezbarvým člověkem, který „byl vyproštěn z tohoto spojení s tváří a slovy, jež ho v tomto člověku nedovoľovaly rozpoznat, jako z jakési nestálé chemické vazby“ (III/555). Disociační energie mezi očekávaným a skutečností byla tedy velmi malá. Obdobně popisuje zánik emocí ve vztahu vypravěče k někdejší jeho lásce (VI/199): „Ale od nějaké doby neměla už slova týkající se Albertiny svoji toxickou schopnost, byla jako nějaký jed, který vyprchá.“ Z mnoha chemických procesů můžeme vzpomenout rozkladu kyanidu draselného na kyanatan draselný, doprovázený snížením toxicity prvého. Podobně spisovatel využívá termického rozkladu k popisu vlivu uměleckého talentu (II/392): „Nadání umělce působí jako velmi vysoké teploty, které mají schopnost rozrušit kombinace atomů a seskupit je v docela odlišném pořádku, odpovídajícím jinému typu.“

Fotografie byla pro Prousta a jeho současníky již běžným způsobem umožňujícím chemickým procesem zachytit prchavý okamžik, aby ho bylo možné znovu nalézt³⁶. V románu jej spisovatel využívá k popisu důvodů, proč si

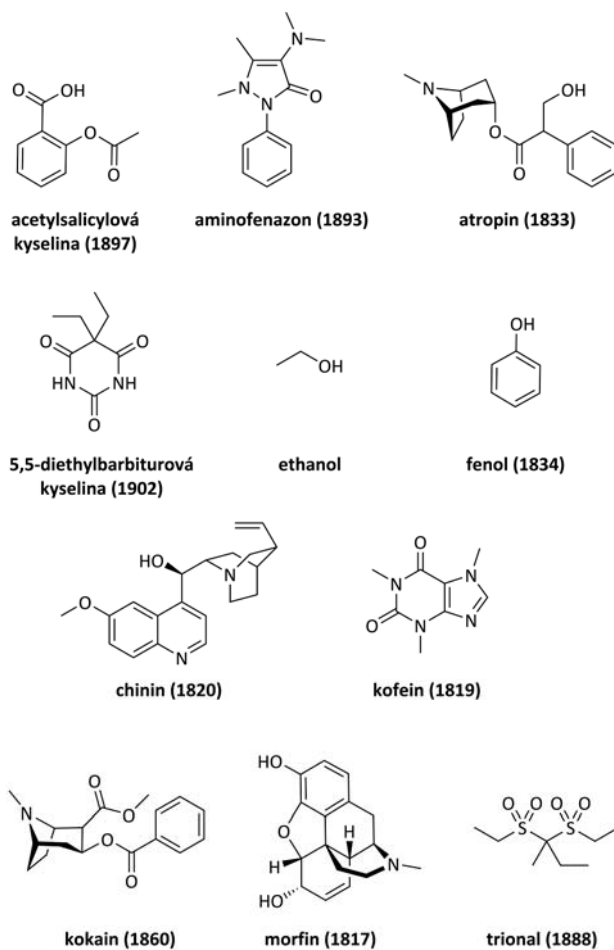
vypravěč vybírá určitý typ přítelkyň (II/421): „Ty ženy jsou výtvor naší letory, obraz, převrácená projekce, ‚negativ‘ naší citovosti.“ Podobně vypravěč konstatuje, že díky špatnému chování jeho sluhů (III/67): „jsem se dověděl o vlastních vrozených a neproměnných vadách, a jejich povaha mi takto předváděla jakýsi negativ mé povahy.“ Se světlem, které je pro fotografii nezbytným médiem, se pojí i spektrální analýza, kterou, jak jsme ukázali výše, už Proust využil v románu *Jean Santeuil*. I v jeho opus magnum má tato analytická metoda své místo. Během návštěvy divadla pozoruje vypravěč paní de Guermantes a uvádí, že v jejím zvláštním, vědoucím pohledu zářil (III/55) „modrý trpyt, který by mi byl možná, kdybych byl jen dokázal rozložit jeho spektrum a analyzovat jeho krystalické složení, odhalil podstatu tohoto neznámého života, který se mi tu v této chvíli zjevoval.“

Do éry Proustova života spadá rovněž velký rozvoj periodické soustavy. V letech, jež ohraničují jeho život, bylo popsáno celkem dvacet tři nových prvků, z nich se ale jmenovitě v románu uplatňuje jen jediný, ale o to slavnější: radium, objevené roku 1898 manželi Marií a Pierrem Curieovými v jáchymovském smolinci³⁷. Proustovi byl znám i radioaktivní rozpad nového prvku, což mistrně využil k popisu neuvadající krásy Odetty de Crécy (VI/556): „její vzhled, jakmile člověk znal její věk a očekával, že spatří starou ženu, se zdál být ve vztahu k zákonům chronologie výjimkou zázračnější, než jako by ve vztahu k zákonům přírody bylo uchování radia v nezměněném stavu.“ Současně si byl vědom extrémně malých rozměrů jednotlivých atomů, jak pramení z jeho výtečných popisů (I/365): „nenalézal jsem v nich ani atom požitku“. A rovněž je mu známo, že chemická individua jsou tvořena jen částicemi téhož druhu, a tak může vypravěč konstatovat, že „ta dáma možná ani není ... ve všech svých molekulách věvodkyní Guermantskou“ (I/168), nebo při pohledu na jasnou oblohu, u níž lze zrakem „její hmotu propátrávat hlouběji a hlouběji, a nenarazil by ani na jediný atom čehokoli, co by nebylo právě jen touto modří samotnou“ (V/412).

4.4. Chemické látky jako léčiva

Proustova četná onemocnění a nepřírozený životní rytmus (spánek přes den, práce v noci) jej přivedly do důvěrného styku s mnohými léčivy a povzbuzujícími prostředky^{38–40}. Spisovatel sám byl značně nedisciplinovaný pacient, který si osobně indikoval řadu léků a stimulantů, které navíc dával velmi nevyzpytatelně^{14,41}. Tak si mimo jiné přivodil i několik závažných intoxikací barbituráty a opiovými alkaloidy¹⁴. Tato osobní zkušenost se zrcadlí i v samotném románu (VI/75): „podobně jako když u nějakého léku se jedna z jeho složek nahradí jinou a ten se tím změni ze vzpružujícího a rozněčujícího prostředku v drogu vzbuzující depresi.“ Není proto překvapivé, že se na stránkách jeho životního díla setkáme s řadou léčiv (obr. 4), včetně pozoruhodných detailů o nich.

Hned na prvních stránkách románu uvádí vypravěč chronicky nemocnou tetu Leonii, která na své dlouhodobé zažívací obtíže užívá pepsin ve velkých dávkách (I/60, 62,



Obr. 4. Struktury chemických látek vystupujících jako léčiva v Proustově *Hledání ztraceného času* (v závorce uvedeny roky objevu nebo izolace)

64, 104). Pepsin jako první izoloval roku 1836 německý fyziolog Theodor Schwann (1810–1882), a záhy byl v různých formách uveden i do terapie⁴².

Chronickým onemocněním, které je silně spojeno s psychickým stavem pacienta, je rovněž astma, kterým trpí románový hrdina, stejně jako sám autor. Jedním ze způsobů mírnění ataků této choroby, který Proustovi dobývá medicína předepisovala, bylo používání cigaret nebo vykuřovacích prášků, jejichž aktivní složkou byl durman obecný, resp. atropin⁴³. A tak může poučeně konstatovat (V/29): „Existují astmatikové, kteří překonají svůj záchvat, jen když otevřou okna ... a jini zas, jen když se uchýlí uprostřed města do pokoje naplněného dýmem.“ Spisovatel rovněž podstoupil terapeuticky značně pochybnou kúru založenou na popíjení alkoholických nápojů, která mu byla lékaři předepsána v dospívání⁴⁰. Stejná „medikace“ potkává i románového hrdinu (II/66): „náš lékař mi ... radil, abych kromě kofeinu předepsaného k usnadnění dýchání užíval pivo, šampaňské víno nebo koňak, když ucítím, že se záchvat blíží.“ Zmíněný kofein, používaný rovněž

k tlumení astmatických záchvatů samotným spisovatelem, se objevuje na řadě míst románu. A vyprávěč, jdoucí ve stopách svého autora, se rovněž dopouští omylů v jeho dávkování (II/144): „*Poněvadž bylo vlhko, požil jsem víc kofeinu než obvykle.*“ To se přirozeně projeví nežádoucí tachykardií (II/168): „*Po kofeinu jsem míval prudké bušení srdce a přestalo to, když mi zmenšili dávky.*“

S dýcháním je spojeno i použití nosní masti s „*příjemnou vůní rhino-gomenolu*“ (V/243). Aktivní složkou tohoto přípravku, dosud ve Francii prodávaného, je antisepticky působící kajepuťový olej, jehož zdrojem jsou keře z čeledi myrtovitých, a který byl do Evropy uveden počátkem 18. století^{32,44}. Hlavními obsahovými látkami oleje jsou eukalyptol a terpineol. Dalším významným desinfekčním prostředkem Proustovy doby byl fenol. Látku poprvé izoloval z uhlého dehtu německý chemik Friedlieb Ferdinand Runge (1794–1867), který byl i prvním, kdo izoloval výše uvedený kofein a experimentoval i s rovněž zmíněným atropinem^{7,8,45}. Vodný roztok fenolu má charakteristický zápach, který po léta doprovázel lékaře, zejména chirurgy. Proto románový lékař profesor Cottard, pravděpodobně odraz Proustova vlastního otce⁴⁶, pořádá u sebe doma pro členy lékařské fakulty večere, které jsou „*obestřené pachem fenolu*“ (III/470). Odér látky dále zmiňuje v jedné z mnoha románových diskusí paní d'Arpajon, když pranýřuje nekvalitu večere u paní de Villeparisis (III/517): „*servírovala se tam kambala naložená v karbolu! Působilo to spíš jako dezinfekční procedura než jako servírování jídla.*“

Proustovy obtíže se spánkem se projevují v množství hypnotik, s nimiž se na stránkách románu setkáváme. Jeho osobní, detailní zkušenosti s těmito látkami se promítají v pasáži (III/88): „*Nedaleko odtud je vyhrazená zahrada, kde vyrůstají jako nějaké neznámé květy spánky navzájem tak odlišné, spánek vyvolávaný durmanem, indickým konopím a četnými éterovými výtažky, spánek skýtaný beladonou, opiem nebo baldriánem; tyto květy zůstávají zavřeny až do dne, kdy se jich předurčený neznámý přijde dotknout a dá jim rozvíjet se, vydechovat po dlouhé hodiny uvnitř nějaké žasnoucí a překvapené bytosti vůni svých vlastních snů.*“

Významným příspěvkem chemie v tomto směru, učiněným v druhé polovině 19. století, byla syntéza barbiturátů⁴⁷. Základní barbiturovou kyselinu syntetizoval roku 1864 německý chemik Adolf von Bayer (1835–1917), ale teprve roku 1903 byla jako hypnotikum zavedena do terapie diethylbarbiturová kyselina, známá pod obchodními názvy barbital nebo veronal. Proust byl jejím uživatelem a stěžoval si, že mu způsobuje poruchy paměti¹⁴, což se odráží i v textu románu (IV/389): „*Vždycky jsem tvrdil – a také vyzkoušel – že nejúčinnějším z hypnotik je spánek ... probudit se bývá mnohem těžší než po požití několika gramů veronalu.*“ O několik řádek dále zmiňuje „*speciální poruchy paměti, vyvolávané hypnotiky*“, a rovněž slovy vyprávěče uvádí (IV/390): „*Vznešená idea zůstala na svém místě; to, co uspávací prostředek vyřadil, je právě schopnost jednat v drobnostech, ve všem tom, co vyžaduje jistou aktivitu, abychom vylovili a zachytili v pravý čas určitou vzpomínku týkající se každodenního života.*“ Raná

éra barbiturátů byla charakterizována syntézou řady derivátů lišících se substituenty na základním skeletu barbiturové kyseliny. I tato nuance je v románu přesně zachycena, když jedna z postav, spisovatel Bergotte, experimentuje s užíváním různých hypnotik (V/187): „*Některé patří k jiné čeledi než ty, na které jsme uvyklí, jsou odvozeny například z amylu a ethylu.*“ Na jiném místě se doktor Cottard ptá (IV/366): „*Můžete mi říct, jaký podíl amylu a ethylu obsahuje?*“

Ve značně poučené diskusi o hypnotikách, kterou románové postavy zapředou, vystupuje i trional, další dobové sedativum a hypnotikum (IV/366): „*trional jsem nebral nikdy, ani žádnou z těchhle drog, co začnou být brzy bez účinku.*“ Látku syntetizoval roku 1888 německý chemik Eugen Baumann (1846–1896), mimo jiné objevitel PVC (cit.⁴⁸). Trional je strukturální obdobou známějšího sulfonmethanu téhož autora.

Hypnotikům jsou blízka i sedativa. Proust uvádí, že, dvorný muž, doprovázející svoji milenkou do restaurace, má (II/322) „*mít v kapse valerjánové kapky, protože by je mohla potřebovat*“. Kapkami je míněna tinktura, připravovaná extrakcí kořene kozlíku lékařského ethanolém, oblíbená jako sedativum už od dob Hippokratových³².

Jedním z nejslavnějších hypnotik a analgetik všech dob je opium^{32,49}. Text románu ho zmiňuje opět v souvislosti se spánkem (V/125): „*Je snadné hovořit o kráse, kterou vytváří opium. Ale někomu, kdo je zvyklý spát jen s pomocí drog, neočekávaná hodina přirozeného spánku odhalí jitrní nesmírnost krajiny zrovna tak tajuplně, a svěžejší.*“ Smyslové vjemy, které opium vyvolává, dávají vyprávěči možnost vyjádřit požitek spojený s poslechem již zmíněné Vinteuilovy sonáty (V/380): „*to, co hudba může vyjádřit, je dokonce víc než jen pouhá nervová slast z krásného počasí nebo z noci spánku vyvolaného opiem*“.

Z opia izolovaný morfin vystupuje v textu románu ve svých obou polohách^{32,49}. Předně jako prostředek tišící bolest, podávaný jak orálně (II/168, V/197), tak injekčně (VI/608), nebo jako hypnotikum (VI/424). I ve svém mistrovském díle, podobně jako ve výše uvedeném románu *Jean Santeil*, Proust na mnoha místech upozorňuje na zneužívání morfia (VI/310) a morfinismus (I/248, IV/28, V/285, VI/202, VI/310).

Mezi hojně zneužívané stimulanty patří i kokain, alkaloid z keře rudodřev koka, který roku 1855 izoloval německý chemik Friedrich Georg Gaedcke (1828–1890)³². Látko našla kromě lékařského využití jako lokální anestetikum i bohaté zneužití ve formě rekreační drogy (což se odráželo i v četných literárních dílech⁵⁰). Proust ve svém románu zmiňuje dodnes používané slangové pojmenování látky (VI/355): „*lidé pokládají za duchaplné říkat ,koks' místo ,kokain'*“ (francouzský originál: „*les gens qui croient spirituel de dire «de la coco» pour «de la cocaïne»*“). Spisovatel upozorňuje i na následky jeho zneužívání, jímž je předčasná fyzická zchátralost (VI/551): „*nebyl s to rozpoznat ji v jisté dámě s rysy tak strhanými, že linie tváře se nedala rekonstruovat. Bylo to tím, že poslední tři roky brala kokain a jiné drogy. Její oči s hlubokými černými kruhy byly skoro vytřeštěné.*“ V přeneseném smyslu popi-

suje vypravěč pohled jedné z postav románu, paní Verdurinové, jejíž oči (V/231) „návyk na Debussyho podmalovával temnými kruhy víc, než by to byl dokázal udělat návyk na kokain“.

Proustova zkušenost s některými hypnotiky a stimulanty se přetavila do jeho přirovnání oddanosti literatuře k závislosti (IV/362): „Ale viděli jsme opravdu trochu příliš intelektuálů zbožňujících Umění s velkým U, kteří si, pokud jim už nestačí pěstovat se Zolou alkoholismus, vstříkují do žil injekce Verlaina. Když se z oddanosti k Baudleairovi stali narkomani, nebyli by teď už schopni mužného úsilí, jaké po nich vlast jednoho krásného dne může žádat; protože v té teplé, vysilující atmosféře opiomanského symbolismu, ztěžklé nezdravými výpary, mají nervy znečitlivělé těžkou literární neurózou.“ Na okraj poznamenejme, že ve francouzském originále je výraz „devenus éthéromanes par dévotion baudelairienne“, tedy správný překlad má být „stali se etheromani“, protože zmíněný prokletý básník byl sám na této látce závislý. Naopak radost spojenou s potlačěním závislosti na nějakém léčivu či stimulantu oceňuje vypravěč slovy (II/178): „protože i když člověku chutná škodlivý jed, přesto, jakmile si ho již delší čas z nějakého nutného důvodu odpírá, nemůže jinak než svým způsobem ocenit klid, který už neznal, ocenit nepřítomnost vzrušení a trýzně.“

Z látek s analgetickým účinkem zmiňuje román acetylsalicylovou kyselinu, syntetizovanou roku 1897 německým chemikem Felixem Hoffmannem (1868–1946)^{49,51}. Látka se stala nesmírně oblíbeným léčivem, často užívaným v nadměrných dávkách, jak to činí románová postava paní Verdurinová, která proto při léčbě svojí neuralgie (IV/312) „polykala dvě lžičky aspirinu, činila to dokonce jen potají“. Jiné slavné analgetikum, dnes již obsoletní aminofenazon, užívá pod dobovým obchodním názvem paní de Guermantes (III/504): „Mívám z ní každý den takové bolesti hlavy, že si musím pokaždé vzít tabletku pyramidu.“ Látku syntetizovali roku 1893 němečtí chemici Friedrich Stolz (1860–1936) a Ludwig Knorr (1859–1921)^{49,52}. K analgetikům se řadí i antipyretika, z nichž román zmiňuje proslulý chinin⁴⁹, který je podáván vypravěčově churavějící babičce, načež „horečka, jako rozdrčený Pýthón, byla ve chvíli přemožena mocným chemickým živlem“ (III/307). V této souvislosti uvádí Proust i metody lékařské diagnostiky, které „s krutostí přinášely dennodenně cifru udávající množství bílkovin“ (III/307). Pacientce byla nasazena léčba bolesti morfiem, což „bolesti sice utišovalo, ale zvyšovalo naneštěstí zároveň i kvantum bílkovin“ (III/331), proto „ve dnech, kdy kvantum bílkovin bylo příliš vysoké“ (III/332) odmítl lékař medikaci podávat. Originál románu uvádí na místo v českém překladu použitých „proteinů“ specificky albumin („la dose d'albumine“), z toho lze spekulovat, že ke stanovení byla využívána metoda, kterou navrhl roku 1874 francouzský lékař Georges Hubert Esbach (1843–1890), založená na srážení proteinů z moči činidlem obsahujícím citronovou a pikrovou kyselinu⁵³.

5. Chemici a Proust

V souvislosti se samotným názvem Proustova mistrovského díla, publikoval Piccolino hypotézu⁵⁴, že klíčový pojem „*temps perdu*“ (ztracený čas) převzal spisovatel z práce zabývající se nervosvalovým přenosem z roku 1851, jejímž autorem je německý přírodovědec Hermann von Helmholtz (1821–1894).

Přestože četba Proustova díla představuje mimořádnou čtenářskou výzvu, o tom, že řada chemiků Proustovo dílo zná a obdivuje, svědčí recepty citátů z Proustova díla v úvodu některých ryze odborných článků, zabývajících se např. enantioselektivní syntézou⁵⁵ nebo kinetikou fotiozomerizace⁵⁶.

6. Závěr

Marcel Proust projevil v prakticky celém svém literárním díle značnou recepti soudobých chemických poznatků a objevů, které nejen zmiňuje, ale navíc mistrně využívá i v metaforickém smyslu. Bez nadsázky můžeme říci, že *Hledáním ztraceného času* vytvořil velký chemický román, v němž chemie hraje významnou roli jako komunikační i obrazotvorný prostředek. Co bylo zdrojem Proustova zájmu o chemii, bohužel není známo. Jak jsme však uvedli v jednom z našich předchozích sdělení⁵⁷, pracovala ve druhé polovině devatenáctého století ve Francii skupina agilních propagátorů chemie, které se podařilo prostřednictvím série pozoruhodných knih a přednášek získat pro chemii širokou francouzskou veřejnost. Proustovo *Hledání ztraceného času*, označované také jako „řeka Nil jazyka“ (cit.⁵⁸), může být bezesporu ohlasem právě tohoto snažení. Vážnost, jaké se spisovatel těší u kultivované veřejnosti, ho pak předurčuje k použití jako významného edukačně-komunikačního nástroje pro získávání těch, kteří jsou jinak chemií pouze obtížně oslovitelní. A tedy de facto k navázání právě na plodné aktivity někdejší propagátorů chemie. Ostatně jak říká Haynesová⁹, názory a chování veřejnosti ovlivňují mnohem více obrazy než fakta. Právě obraz Marcela Prousta, který pro mnohé s překvapivou samozřejmostí používá znalosti chemie, aby čtenářům přiblížil své neopakovatelné vidění světa, může tuto důležitou roli sehrávat. A to jak při výuce chemie ve školách, tak v rámci vzdělávání dospělých při práci chemiků s kultivovanější částí veřejnosti. Zároveň může dále posilovat identitu chemiků jako esenciální součásti lidské kultury⁵⁷.

LITERATURA

1. Chalupa R., Nesměrák K.: Chem. Listy 108, 995 (2014).
2. Albaret C.: *Monsieur Proust*. Robert Laffont, Paris 1973.
3. Forssgren E. A.: *The Memoirs of Ernest A. Forssgren, Proust's Swedish Valet*. Yale University Press, New Haven 2006.
4. Proust M.: *Letters to the Lady Upstairs*. 4th Estate,

- London 2017.
5. Chalupa R., Nesměrák K.: *Monatsh. Chem.* 149, 1527 (2018).
 6. Chalupa R., Nesměrák K.: *Monatsh. Chem.* 152, 1045 (2021).
 7. Chalupa R., Nesměrák K.: *Chem. Listy* 111, 673 (2017).
 8. Chalupa R., Nesměrák K.: *Ceska Slov. Farm.* 67, 32 (2018).
 9. Haynes R. D.: *From Faust to Strangelove: Representations of the Scientist in Western Literature*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore 1994.
 10. Krätz O.: *Chem. Unserer Zeit* 25, 44 (1991).
 11. Labinger J., v knize: *The Routledge Companion to Literature and Science* (Clarke B., Rossini M., ed.), str. 51. Routledge, London 2011.
 12. Hagen M., Skagen M. V. (ed.): *Literature and Chemistry: Elective Affinities*. Aarhus University Press, Aarhus 2013.
 13. Gossin P. (ed.): *Encyclopedia of Literature and Science*. Greenwood Press, Westport 2002.
 14. Tadié J.-Y.: *Marcel Proust: životopis*. Dauphin, Podlesí 2014.
 15. Straus B.: *Bull. N. Y. Acad. Med.* 50, 833 (1974).
 16. de Costa C.: *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 170, 47 (2013).
 17. Carter W. C.: *Marcel Proust: A Life*. Yale University Press, New Haven 2013.
 18. Watt A. (ed.): *Marcel Proust in Context*. Cambridge University Press, Cambridge 2013.
 19. Large D., v knize: *The Third Culture: Literature and Science* (Shaffer E. S., ed.), str. 217. Walter de Gruyter, Berlin 1998.
 20. Luckhurst N.: *Science and Structure in Proust's: A la recherche du temps perdu*. Clarendon Press, Oxford 2000.
 21. Proust M.: *Jean Santeuil*. Academia, Praha 2009.
 22. Brand J. C. D.: *Lines of Light: The Sources of Dispersive Spectroscopy, 1800–1930*. CRC Press, Boca Raton 1995.
 23. Krätz O.: *Angew. Chem., Int. Ed.* 40, 4604 (2001).
 24. Seidell A.: *Science* 1729, 180 (1928).
 25. Bundy F. P., Hall H. T., Strong H. M., Wentorf R. H.: *Nature* 4471, 51 (1955).
 26. Proust M.: *Hledání ztraceného času: díl I.–VI.* Odeon, Praha 1979–1988.
 27. van Campen C.: *The Proust Effect: The Senses as Doorways to Lost Memories*. Oxford University Press, Oxford 2014.
 28. Reid C. A., Green J. D., Wildschut T., Sedikides C.: *Memory* 23, 157 (2015).
 29. Matsunaga M., Bai Y., Yamakawa K., Toyama A., Kashiwagi M., Fukuda K., Oshida A., Sanada K., Fukuyama S., Shinoda J., Yamada J., Sadato N., Ohira H.: *PLoS One* 8, e72523 (2013).
 30. Fitsiou I., Tzakou O., Hancianu M., Poiata A.: *J. Essent. Oil Res.* 19, 183 (2007).
 31. Vidal J. P., Richard H.: *Flavour Fragrance J.* 1, 57 (1986).
 32. Evans W. C.: *Trease and Evans Pharmacognosy*, 16. vyd. Elsevier, Edinburgh 2009.
 33. Franklin L. M.; Mitchell A. E.: *J. Agric. Food Chem.* 67, 2743 (2019).
 34. Dhanawade A.: *Nineteenth Century Studies* 32, 1 (2020).
 35. Viallaneix P.: *Cahiers de l'Association internationale des études francaises* 47, 247 (1995).
 36. Bergstein M.: *Looking Back One Learns to See: Marcel Proust and Photography*. Rodopi, Amsterdam 2014.
 37. Mould R. F.: *Br. J. Radiol.* 71, 1229 (1998).
 38. Falliers C. J.: *J. Asthma* 23, 157 (1986).
 39. Douglas Y.: *Med. Hypotheses* 90, 14 (2016).
 40. Böttiger L. E.: *Br. Med. J.* 287, 1689 (1983).
 41. Perciaccante A., Coralli A.: *Sleep Medicine* 20, 167 (2016).
 42. Fruton J. S.: *Q. Rev. Biol.* 77, 127 (2002).
 43. Jackson M.: *Medical History* 54, 171 (2010).
 44. Morton J. F.: *Econ. Bot.* 20, 31 (1966).
 45. Anft B.: *J. Chem. Educ.* 32, 566 (1955).
 46. Bogousslavsky J., v knize: *Literary Medicine: Brain Disease and Doctors in Novels, Theater, and Film* (Bogousslavsky J., Dieguez S., ed.), str. 245. Karger, Basel 2013.
 47. López-Muñoz F., Ucha-Udabe R., Alamo C.: *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 1, 329 (2005).
 48. Mendel L. B.: *Science* 106, 51 (1897).
 49. Nesměrák K.: *Bolest* 19, 103 (2016).
 50. Siegel R. K.: *Adv. Alcohol Subst. Abuse* 4, 37 (1984).
 51. Desborough M. J. R., Keeling D. M.: *Br. J. Haematol.* 177, 674 (2017).
 52. Brune K.: *Acute Pain* 1, 33 (1997).
 53. Hatcher W. J., Webb A. G. W.: *Med. Lab. Sci.* 36, 185 (1979).
 54. Piccolino M.: *Audiological Medicine* 1, 261 (2003).
 55. Hoveyda A. H., Malcolmson S. J., Meek S. J., Zhugralin A. R.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 49, 34 (2010).
 56. Reddy K. V., Berry M. J.: *Chem. Phys. Lett.* 66, 223 (1979).
 57. Chalupa R., Nesměrák K.: *Monatsh. Chem.* 151, 1193 (2020).
 58. Benjamin W.: *Gesammelte Schriften. Band 2*. Suhrkamp, Frankfurt am Main 1977.

K. Nesměrák^a and R. Chalupa^{b,c} (^aDepartment of Analytical Chemistry, ^bDepartment of Teaching and Didactics of Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague, ^cRCC Europe, Ltd, Prague): **Marcel Proust: In Search of Chemistry in His Work. The Author and His Great Chemical Novel**

The article analyzes the use of chemistry as a means of communication and imagination in the writings of the famous French writer Marcel Proust (1871–1922). The oldest work in which Proust uses chemistry is the unfinished novel *Jean Santeuil* from 1895–1900. The author demonstrated a remarkable knowledge of the possibilities

of analytical chemistry, including spectral analysis, and drew attention to the risk of morphine addiction. In a collection of texts *Pastiches et mélanges* from 1919, Proust describes the period Lemoine's affair with the alleged production of artificial diamonds (unrealizable at that time), in which the name of the French chemist and Nobelist Henri Moissan (1852–1907) also appeared. However, we find the greatest representation of chemistry in his life's work, the novel *À la recherche du temps perdu* (In Search of Lost Time). Proust – walking in the footsteps of Johann von Goethe – literally created a great chemical novel. First, we analyze the chemical nature of the so-called Proust phenomenon based on the sensory effect of substances on memory. We identify the volatile organic compounds that are responsible for the effect in the novel. Next, we note all references to chemistry and chemists as such, including alchemy. Third, we observe how the writer masterfully used chemical phenomena and concepts as a metaphorical means to express the feelings and motives of the actions of the novel's characters. Fourth, we provide an

annotated overview of chemicals that are introduced in the novel as drugs: acetylsalicylic acid, aminophenazone, atropine, barbital, caffeine, quinine, cocaine, ethanol, morphine, opium, pepsin, phenol, trional, veronal. Proust's personal experience with them is demonstrated by the remarkable details about their effects mentioned in the novel. Finally, we mention the reception of Proust's work by chemists. In addition to reading for pleasure, Proust's work can also play an important communication and inspirational role in chemistry teaching in schools, as well as in the education of the public, and thus help to manage chemophobia. At the same time, it can further strengthen the identity of chemists as an essential part of human culture.

Keywords: didactics of chemistry, chemophobia, identity of chemist, novel, Proust effect, public image of chemistry

- Nesměrák K., Chalupa R.: Chem. Listy 116, 348–357 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/ch120220348>

ENZYMOVÉ BIOSENZORY PRO STANOVENÍ PESTICIDŮ V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ

ONDŘEJ KERESTEŠ a MIROSLAV POHANKA

Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany,
Třebešská 1575, 500 01 Hradec Králové
ondrej.kerestes@unob.cz

Došlo 9.8.21, přepracováno 22.2.22, přijato 14.3.22.

Klíčová slova: Biosenzor, enzym, pesticid, testování
v terénu, analýza životního prostředí, přenosné biosenzory

● <https://doi.org/10.54779/chl20220358>

Obsah

1. Úvod
2. Enzym jako biorekogniční element
 - 2.1. Biosenzory založené na enzymové inhibici
 - 2.2. Biosenzory založené na enzymové katalýze
 - 2.3. Víceenzymové biosenzory
3. Detekce signálu enzymových biosenzorů
 - 3.1. Elektrochemické převodníky
 - 3.2. Optické převodníky
4. Využití běžně dostupné elektroniky
5. Závěr

1. Úvod

Pesticidy jsou už mnoho let běžně součástí zemědělské produkce, a tím představují závažný problém jak při zpracování surovin v potravinovém průmyslu, tak i v přímé konzumaci. Primárně se používají k likvidaci škůdců při pěstování plodin, ošetřování výpěstků ve skladech anebo k prevenci kontaminace během dopravy a prodeje. Příklady modelových pesticidních látek ukazuje obr. 1.

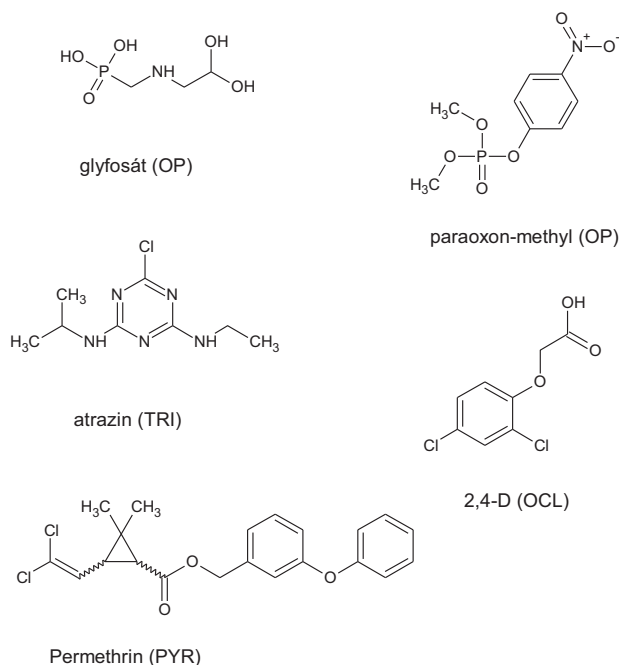
Protože každou plodinu trápí jiná skladba škůdců, můžeme při stanovování obsahu pesticidních látek ve vzorku najít více přípravků obsahujících různé pesticidy. Regulace v používání pesticidů jsou sjednoceny v rámci Evropské unie. Seznam pesticidních látek povolených v ČR pro použití a distribuci zveřejňuje ve svém pravidelném věstníku Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský¹.

Zásadním problémem jsou tzv. perzistentní pesticidy (současné i již nepoužívané), které mohou cirkulovat v potravním řetězci tak, že se ukládají v tukové tkáni (např. DDT), případně se kumulují v půdě nebo podzemní či povrchové vodě (glyfosát², viz obr. 1). Proto je nutné

monitorovat obsah pesticidů v plodinách určených ke spotřebě a konzumaci, aby nedošlo k nežádoucím dopadům na zdraví.

IUPAC definuje biosenzor jako zařízení k detekci chemických látek využívající elektrický nebo optický signál, případně teplo generované během specifické biochemické reakce zprostředkované izolovanými enzymy, imunosystémy, tkáněmi, organelami nebo celými buňkami³. Zásadní roli hraje probíhající enzymatická reakce, přítomnost antigenu pro vybranou protilátku, nebo měření elektrochemického signálu v souvislosti s rozpuštěnými látkami ve vzorku. Základním prvkem biosenzoru je biorekogniční element (BE), podle kterého můžeme v závislosti na interakci s cílovou molekulou rozdělit biosenzory na katalytické a afinitní. BE katalytických biosenzorů (mezi ně řadíme enzymy, živé buňky nebo tkáňové kultury) reagují na změny v prostředí a upravují svou aktivitu vzhledem k prostředí, ve kterém se nachází. BE afinitního biosenzoru (protilátka/antigen, nukleová kyselina aj.) naopak přímo signalizuje přítomnost určité molekulární nebo buněčné struktury⁴.

V této práci jsou probrány nejčastěji zastoupené enzymy pro stanovení pesticidů spolu s přehledem používaných technik. Důraz byl kladen na hledání možných alternativ



Obr. 1. **Strukturní vzorce různých pesticidních látek.** OP – organofosfátové pesticidy; TRI – triaziny; OCL – organochlorové pesticidy; PYR – pyrethroidy

enzymů hojně používaných cholinesteras (ChE). V tomto článku také čtenář najde komentáře k některým zdařilým konceptům vhodným pro terénní analýzu vzniklých převážně v posledních 5 letech.

2. Enzym jako biorekogniční element

Princip stanovení pesticidů pomocí enzymových biosenzorů spočívá v inhibici enzymů nebo v enzymem katalyzované chemické přeměně substrátu – pesticidu.

Enzymy jsou v biosenzorech navázány na senzoricou platformu, jako podklad můžeme použít např. pevný povrch nebo suspenzi částic. Bližší přehled technik používaných pro imobilizaci enzymu na povrchy může čtenář najít např. v práci⁵. Podrobný přehled biosenzorů podle použitého BE je s principem detekce a limitem detekce příslušné látky uveden v tab. I. Pro zajímavost je také uvedena doba stanovení i s dobou přípravy, které dohromady téměř nepřesahují 60 min. Grafický přehled enzymů používaných v biosenzorech na stanovení pesticidů je společně s druhem cílových látek uveden na obr. 2.

Tabulka I

Příklady enzymů používaných v biosenzorech pro stanovení pesticidů

| Enzym | Pesticid | Převodník | LOD | Doba stanovení (Stanovení, Příprava) | Lit. |
|------------|-------------------------------|--|--|--------------------------------------|------|
| AChE | Karbofuran | optický (fluorimetrie, kvantové) | 1,10 $\mu\text{g l}^{-1}$ | S+P 30 min | 54 |
| | Malathion | elektrochemický (amperometrie) | 99 ng l^{-1} | S+P14 min | 55 |
| | | optický (senzor okolního světla ve smartphonu) | 0,45 mg l^{-1} | S 1 min, P 15 min | 56 |
| | Chlorpyrifos | optický (senzor okolního světla ve smartphonu) | 3,3 mg l^{-1} | S 1 min, P 15 min | 56 |
| | | elektrochemický (amperometrie) | 0,2 $\mu\text{g l}^{-1}$ | S 1 min, P 10 min | 57 |
| | Diazinon | optický (fluorimetrie, nanočástice) | 0,05 $\mu\text{g l}^{-1}$ | S 6 min, P 55 min | 43 |
| | Dichlorvos | elektrochemický (amperometrie) | 0,28 $\mu\text{g l}^{-1}$ | S neprodlené, P 15+15 min | 58 |
| | Permethrin | elektrochemický (amperometrie) | 3,17 mg l^{-1} | – | 59 |
| | Parathion | optický (kolorimetrický testovací proužek Hybond N+) | 1 $\mu\text{g l}^{-1}$ | S 15 min, P 30 min | 60 |
| ALP | Paraoxon-ethyl | optický (pH testovací proužek) | 13,8 μl^{-1} | S 2 min, P 10 min | 37 |
| | 2,4-D | elektrochemický (amperometrie, tištěná elektroda) | 50 μl^{-1} | S 2 min, P 5 min | 14 |
| | Acephate (specificky) | optický (fluorimetrie (FL), spektrofotometrie (SF)) | 0,4 μl^{-1} FL 0,9 μl^{-1} SF | S < 30 min, P 15 min | 61 |
| BChE | Paraoxon | elektrochemický (amperometrie, tištěná elektroda) | 2 μl^{-1} | S 2 min, P 5 min | 14 |
| | Dichlorvos | optický (spektrofotometrie, optické vlákno) | 5,2 μl^{-1} | S 2 min, P 1 den | 62 |
| Lipasa | Paraoxon-ethyl | optický (kolorimetrie) | 10,9 $\mu\text{g l}^{-1}$ | S do 20 min, P 20 min | 12 |
| | Parathion-methyl (specificky) | elektrochemický (dif. pulsní voltametrie) | 17,6 $\mu\text{g l}^{-1}$ | – | 63 |
| OPH | Parathion-methyl | elektrochemický (square-wave voltametrie) | 2,6 $\mu\text{g l}^{-1}$ | S 30 s, P přes noc | 64 |
| Tyrosinasa | Atrazin | elektrochemický (amperometrie, tištěná elektroda) | – | S 2 min, P 5 min | 14 |
| | Glyfosát | elektrochemický (amperometrie, tištěná elektroda) | 1,1 $\mu\text{g l}^{-1}$ | S 1 min, P < 20 min | 18 |
| Ureasa | Dimethoát | optický (fluorimetrie) | 2 μl^{-1} | S 10 min, P 45 min | 65 |
| | Glyfosát | elektrochemický (potenciometrie) | 0,5 mg l^{-1} | S 15 min, P 3 min | 22 |

AChE – acetylcholinesterasa, ALP – alkalická fosfatasa; BChE – butyrylcholinesterasa; OPH – organofosfáthydrolasa, SPR – povrchová plazmonová rezonance

2.1. Biosenzory založené na enzymové inhibici

I v posledních letech si popularitu uchovávají enzymové biosenzory pro screening pesticidů založené na jedné ze dvou známých a vzájemně blízkých ChE – na acetylcholinesterase (AChE, E.C. 3.1.1.7), nebo butyrylcholinesterase (BChE, E.C. 3.1.1.8). Jsou to serinové hydrolasy katalyzující hydrolyzu neuromediátoru acetylcholinu v nervovém systému⁶, BChE působí i jako detoxikační enzym⁷. Na rozdíl od BChE je AChE inhibovatelná nadbytkem substrátu, což je dobré brát v potaz při přípravě prototypů biosenzoru a vnímat jako možnou nevýhodu⁸. Obě ChE jsou používány v biosenzorech pro stanovení organofosfátových (OP) a karbamátových (CM) pesticidů⁹, které se kovalentně váží v aktivním místě přes aminokyselinu serin.

V současné době stále probíhá hledání dalších enzymů a přístupů pro analýzu pesticidů. Z obr. 2 je patrné, že biosenzory založené na ChE mohou již být zčásti nahrazeny jinými enzymy. Na následujících řádcích si je krátce představíme.

Alternativou cholinesterasových biosenzorů pro stanovení organofosfátů může být např. esterasa 2 (EST2, E.C. 3.1.1.1) izolovaná z termofilní bakterie *Alicyclobacillus acidocaldarius*¹⁰. Jedná se o stabilnější enzym s podobnými katalytickými vlastnostmi. Její aktivní místo je kovalentně modifikovatelné podobným mechanismem jako u ChE. Inhibitory EST2 esterifikují aminokyselinu serin v aktivním centru enzymu¹¹.

Za zmínku stojí také lipasy – další potenciální náhrady ChE. Lipasy spadají také do skupiny serinových hydrolas. Zástupcem je triacylglycerol-acylhydrolasa (E.C. 3.1.1.3), která se jeví jako finančně dostupnější náhrada ChE. Je možné je izolovat z bakterií, např. z psychrofilního bakteriálního kmene *Psychrobacter sp.* původně nalezeného na Antarktidě, jehož lipasa má poměrně silnou aktivitu^{12,13}.

Dalšími používanými enzymy v biosenzorech pro stanovení pesticidů jsou alkalická fosfatasa (ALP), tyrosinasa (EC. 1.14.18.1) nebo ureasa.

ALP (E.C. 3.1.3.1) katalyzuje hydrolyzu monoesterů fosforečných kyselin. Existuje jich více druhů podle pH prostředí, ve kterém se běžně nalézají. V lidském těle můžeme najít kyselou i alkalickou fosfatasa. Jsou známé právě jako biomarkery v klinické biochemii. Pro stanovení pesticidů alkalickou fosfatasa může sloužit 1-naftylfosfát, jehož hydrolyzou pomocí ALP vznikne elektroaktivní 1-naftol. Aktivitu ALP ovlivňuje např. 2,4-dichlorfenoxycetová kyselina – organochlorový pesticid (OCL) známý pod zkratkou 2,4-D (cit.^{14–16}).

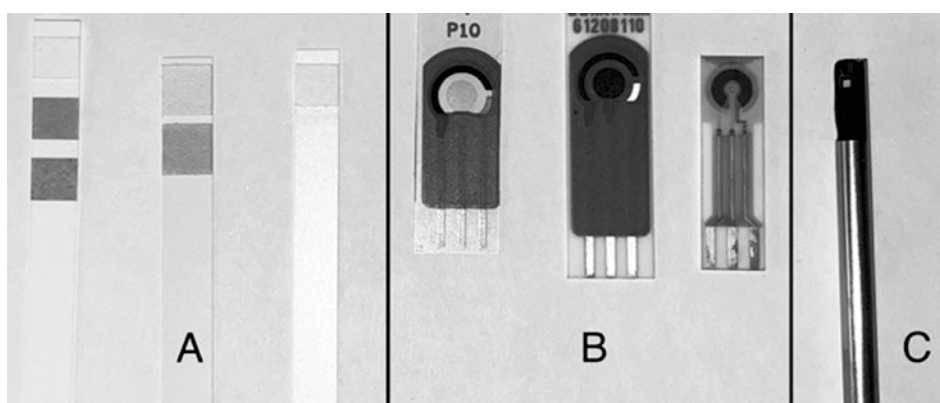
Tyrosinasa je metaloenzym se dvěma atomy mědi v aktivním centru. Jako monofenolmonooxygenasa katalyzuje *o*-hydroxylaci monofenolů na *o*-chinony s *o*-difenyly jako meziproducty¹⁷. Pro biosenzory se používá tyrosinasa izolovaná z hub, kdy se deteguje změna elektrického proudu při elektrochemické redukci *o*-chinonů na *o*-difenyly¹⁴. Inhibitory tyrosinasy jsou např. herbicidy atrazin, glyfosát a 2,4-D. S výjimkou glyfosátu jsou to její kompetitivní inhibitory^{14,18,19}.

Ureasa (E.C. 3.5.1.5) je v přírodě rozšířený enzym produkovaný rostlinami, bakteriemi a houbami²⁰. Ve své molekule má dvě aktivní místa a v centru každého je atom niklu. Ureasa postupně ve dvou krocích katalyzuje přeměnu močoviny na amoniak a oxid uhličitý. Mezi její inhibitory patří herbicidy glyfosát^{21,22} a atrazin, který je nekompetitivním inhibitorem²³. Zajímavé zjištění je, že aktivitu ureasy v půdě ovlivní i přítomnost mikroplastů²⁴. Tuto interferenci bude nutné vzít v úvahu při konstrukci biosenzorů pro dlouhodobější sledování pesticidů (hodiny až dny) např. v povrchové vodě.

2.2. Biosenzory založené na enzymové katalýze

Jak již bylo zmíněno výše, druhou skupinou enzymových biosenzorů jsou biosenzory založené na katalytické reakci cílové látky a vybraného enzymu.

Zástupcem takového enzymu v biosenzorech pro stanovení pesticidů je organofosfát hydrolasa známá také jako fosfotriesterasa (OPH nebo PTE, E.C. 3.1.8.1). Jde o enzym půdních bakterií katalyzující hydrolytické štěpení



Obr. 2. Ukázky testovacích prostředků. A – testovací proužky pro kolorimetrické stanovení pH s jednou, dvěma a třemi testovacími plochami; B – Tištěné elektrody pro elektrochemické stanovení; C – elektrochemický modul ISFET

molekul s vazbami P-F, P-O, PCN, P-S (cit.^{25,26}). Tyto vazby najdeme v organofosfátových pesticidech, jako je paraoxon, chlorpyrifos, aj. OPH tak lze do jisté míry považovat za zajímavou alternativu k biosenzorům založeným na ChE. Výhodou použití OPH v biosenzorech je možnost jejího opakovatelného použití v porovnání s ChE-biosenzory při jejich zablokování stanovenou látkou²⁷.

2.3. Víceenzymové biosenzory

V biosenzorech pro stanovení pesticidů můžeme najít více jak jeden enzym. Setkáme se i se systémy, které fungují jako katalytická kaskáda. Kromě hlavního enzymu – cíle stanovené látky – fungují další přidané enzymy jako prostředníci, kteří předávají signál a zpěšňují tak výslednou odpověď. Většinou se jedná o producenty elektronů pro fluorescenční sondy, nebo zprostředkovatele redoxní reakce s doprovázející barevnou změnou. Příklady takových systémů spolu s popisem principu stanovení, limitem detekce a dobou stanovení ukazuje tab. II.

Spřaženými enzymy ve dvou a víceenzymových systémech bývají oxidoreduktasy cholinoxidasa nebo křenová peroxidasa. Cholinoxidasa (ChO, E.C. 1.1.3.17) je oxidoreduktasa katalyzující dvoukrokovou oxidaci cholinu na betain a peroxid vodíku. Ve své molekule nese jako kofaktor flavinové koenzymy. Křenová peroxidasa (HRP, E.C. 1.11.1.7), enzym s molekulou hemu jako kofaktorem, je jeden z plošně nejpoužívanějších enzymů pro biosenzory. Váže se jako fluorescenční sonda v biologických stanoveních (např. ELISA, imunohistochemie). Vykazuje robustní aktivitu v širokém rozsahu pH a teplot^{2,28}. Ve spojení s kvantovými tečkami se HRP užívá k fluorescenční detekci organofosfátů v kombinaci s ChE (cit.²⁹).

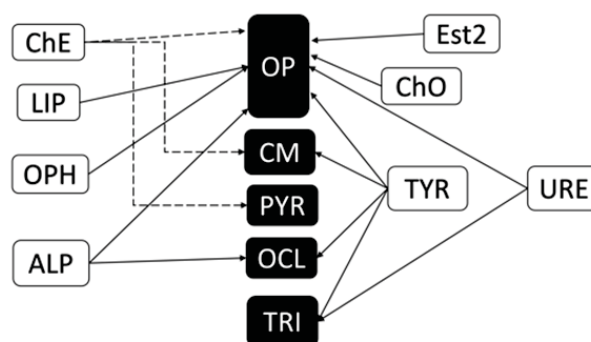
3. Detekce signálu enzymových biosenzorů

V případě enzymového biosenzoru reaguje fyzikálně-chemický převodník na probíhající enzymovou reakci.

Signál převede do formy měřitelné senzoricou částí biosenzoru. Nejčastější převodníky uplatňované v biosenzorech jsou elektrochemické a optické³⁰. Vzory možných převodníků pro imobilizaci enzymů jako BE jsou patrné na obr. 3.

3.1. Elektrochemické převodníky

Elektrochemické převodníky generují signál v závislosti na dílčích změnách v elektrochemických parametrech, jako je napětí, velikost elektrického proudu, rozdíl potenciálu, aj. S elektrochemickými biosenzory se setkáváme ve dvou podobách. Buď se jedná o pevnou elektrodu s imobilizovaným BE (cit.³¹), případně je BE imobilizovaný např. na ISFET modulu³², obr. 2C). Dále můžeme využít sítotiskové techniky a elektrody vytisknout na podklad z různých materiálů³³, jedná se pak o tzv. sítotiskové elektrody (screen-printed elektrody, SPE) viz obrázky 4B. Arduini a spol. se inspirovali komerčními Origami SPE



Obr. 3. Enzymy a jejich cílové látky – možnosti stanovení pesticidů (černě) s různými enzymy (bíle); ChE – cholinesterasy, Cho – cholinoxidasa, Lip – lipasa, est2 – esterasa 2, OPH – organofosfáthydrolasa, Tyr – tyrosinasa, ALP – alkalická fosfatasa, URE – ureasa, OP – organofosfátové pesticidy, CM – karbamátové pesticidy, PYR – pyraziny, OCL – organochlorové p., TRI – triaziny

Tabulka II

Příklady biosenzorických systémů složených z více enzymů

| Senzorický systém | Princip detekce | Analyt (LOD detekce) | Doba stanovení (Stanovení, Příprava) | Lit. |
|---------------------------|-------------------------------|--|--------------------------------------|------|
| AChE/ChO/HRP | chemiluminiscence | Chlorpyrifos-methyl (83,5 ng mm ⁻²) | S 6 min, P < 15 min | 51 |
| AChE/ChO/TMB | AM a KM | Paraoxon (6 pg l ⁻¹ AM, 10 ng l ⁻¹ KM) | S < 15 min, P 30 min | 66 |
| ChO/HRP/ABTS | kolorimetrie | Paraoxon-methyl (14,33 mg l ⁻¹) | S+P 12–60 min | 67 |
| AChE/HRP | diferenční pulzní voltametrie | Monocrotophos (1 ng l ⁻¹) | S < 15 min, P 10 min | 29 |
| AChE/ChO/MnO ₂ | kolorimetrie | Paraoxon (0,5 mg l ⁻¹) | 15 min | 68 |

ABTS – 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonová kyselina), AChE – acetylcholinesterasa, AM – amperometrie, HRP – křenová peroxidasa, ChO – cholinoxidasa, KM – kolorimetrie, TMB – 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin

elektrodami a z filtračního papíru vytvořili skládaný jednorázový 3-enzymový biosenzor pro stanovení pesticidů¹⁴. Elektrody vytiskli pomocí inkoustů s obsahem grafitu a AgCl. Reakční prostor vyrobili pomocí voskového tisku a sušárny. Tento biosenzor umožní amperometricky po pětiminutové inkubaci postupně stanovit aktivitu ALP (screening OCL herbicidu 2,4-D), BChE (screening OP) a TYR (screening TRI). Reakce je spuštěna substrátem enzymu a biosenzor je spojen svorkou. Chronoamperometricky analýza trvá 2 minuty a sleduje se pokles generovaného proudu. Toto měření může přinést bližší informaci o složení vzorku než analýza s jedním enzymem. Mishra a spol. testovali možnost vytvořit elektrochemický systém na jednorázové vyšetřovací rukavici³⁴. Na ukazovák rukavice vytiskli elektrody, které byly spojeny přes pásek s kontakty a pomocí kabelů byl signál převáděn do přenosného potenciostatu. Na palci bylo vytvořeno místo pro otření vzorku. Tento koncept je z technického hlediska už velmi blízko terénní analýze povrchů vypěstovaných plodin v komerčním sektoru. Kromě prací využívajících komerčních zařízení pro převod signálu z BE se můžeme setkat i s projekty, do kterých je zapojena tzv. „open-source“ elektronika (viz kap. 4)³⁵.

Můžeme se setkat i s poněkud nekonvenčním přístupem k použití standardních zařízení. Tang a spol. dokázali upravit osobní glukometr ke stanovení OP (cit.³⁶). Úskalím takového přístupu je nutnost upravit komerčně dodávané elektrody připravené na kapilární odběr krve.

3.2. Optické převodníky

Optické převodníky se starají o barevné zobrazení signálu příslušného BE.

Optické převodníky signálu z BE sledují barevnou změnu související s reakcí probíhající na BE. Dojde-li např. ke změně pH v roztoku, acidobazickým indikátorem, ať už rozpuštěným nebo vázaným na povrchu^{37,38} (např. na testovacím proužku) sledujeme pH pomocí změny jeho barvy. Kolorimetricky také stanovíme produkty dokazující proběhlou chemickou nebo enzymovou reakci (rozštěpení Ellmanova činidla za vzniku žlutooranžového produktu, hydrolyzu indoxylacetátu za vzniku modrého pigmentu indigo^{13,39}). Detekce signálu pak probíhá pouhým okem, přesnější stanovení pak pomocí přístrojových technik.

Druhou možností pro optický převod signálu z BE je zachycení emise záření v souvislosti s probíhající reakcí. Oblíbené jsou kvantové tečky – polovodivé nanokrystaly CdSe s obalem ze ZnS, případně jiné hybridní povrchy, které dokáží vyzářit kvantum energie během probíhajícího oxidoredukčního pochodu v jejich okolí (např. oxidace hydrolyzovaného cholinu ChO na betain a peroxid vodíku)^{40,41}. Více o přípravě a vlastnostech kvantových teček lze nalézt v práci⁴². Dalším příkladem může být reakce produktu hydrolyzy acetylthiocholinu, který vytěsňuje z nanočástic měďnaté ionty, čímž spustí fluorescenční signál⁴³. Fluorofory se také mohou v odpovědi střídat podle toho, je-li enzym inhibovaný pesticidem nebo není⁴⁴. Při porovnání

obou signálů tak může mít analytik ještě jasnější informaci o obsahu vzorku v porovnání se situací, kdy sleduje míru změny fluorescence při slabé kontaminaci jedním fluoroforem.

4. Využití běžně dostupné elektroniky

V analýze biosenzory se ovšem nemusíme opírat pouze o drahé vybavení a analytické přístroje, na kterých často probíhá výzkum nově konstruovaných zařízení, a mnohdy ani analýzu v terénu svou konstrukcí neumožní.

Pro stanovení mimo laboratoř můžeme místo nich použít mobilní telefon⁴⁵, případně sestavit vlastní zařízení osazené jednodušší elektronikou^{46,47}. Pro vylepšení optických biosenzorů můžeme využít 3D tisku a připravit pomůcky pro zaznamenání signálu – komory pro fotografování, konečně i těla samotných analyzátorů^{11,47–52}. Tisk reakčních polí pro optické stanovení aktivity enzymů je další možností přípravy stanovení cizorodých látek mimo laboratorní zázemí. (Příklad 2D a 3D tištěného pole pro kolorimetrická měření lze nalézt v pracích^{46,53}). Z chytrého telefonu můžeme také udělat sběrnou dat a kontaminanty stanovit pomocí dalších jednoduchých zařízení postavených na jednočipových počítačích. Existuje již řada slibných přenosných přístrojů použitelných jako fotometry nebo elektrochemické analyzátoři. Byť mají zatím některé nevýhody jako např. fixní rozsah vlnových délek světelného zdroje či nutnost certifikace pro komerční provoz, mezi jejich výhody lze počítat snadnou a levnou výrobu, a zároveň i to, že je lze poměrně nápaditě vyladit podle potřeby.

Zdařilým příkladem vlastní konstrukce je přístroj vyvinutý skupinou Chao a spol.⁵¹. Umožňuje stanovení organofosfátů pomocí systému enzymů AChE/ChO/HRP imobilizovaném v hydrogelovém disku. Testování probíhalo se vzorky zeleniny, na jejichž povrchu se chemiluminiscenčně měřila koncentrace chlorpyrifos-methylu. Podobný způsob testování bude z důvodu vysoké citlivosti výhodný zejména pro screening zakázaných pesticidů.

5. Závěr

Enzymové biosenzory jsou v analýze pesticidů stále platným nástrojem. Aktivní hledání účinných způsobů detekce pesticidů se o biosenzory může směle opírat jak v kontrole životního prostředí, tak v zemědělství, potravinářství nebo medicíně. Je možné s nimi provádět analýzy v terénu v řádu jednotek až desítek minut. Zároveň nekladem takové nároky na přípravu vzorku v porovnání s chromatografickými nebo MS systémy⁹. Velká část nových biosenzorů se stále opírá o cholinesterasy, v posledních letech je doplnily enzymy ureasa, tyrosinasa, lipasa, cholinoxidasa a organofosfát hydrolasa. Zároveň došlo i k důležitému posunu v konstrukci biosenzorických systémů. Stále více se při konstrukci přenosných zařízení využívá tzv. „open-source“ elektroniky.

Seznam použitých zkratk

| | |
|-------|--|
| 2,4-D | (2,4-dichlorfenoxy)octová kyselina |
| ABTS | 2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina |
| AChE | acetylcholinesterasa |
| ALP | alkalická fosfatasa |
| BChE | butyrylcholinesterasa |
| BE | biorekogniční element |
| CM | karbamátové pesticidy |
| DDT | 1,1,1-trichlor-2,2-bis(4-chlorfenyl)ethan |
| HRP | křenová peroxidasa |
| ChE | cholinesterasa |
| ChO | cholinoxidasa |
| ISFET | iontově senzitivní tranzistor s efektem pole |
| OCL | organochlorové pesticidy |
| OP | organofosfátové pesticidy |
| OPH | organofosfát hydrolasa |
| PDMS | polydimethylsiloxan |
| PET | poethylentereftalát |
| PYR | pyrethroidy |
| TMB | 3,3', 5,5'-tetramethylbenzidin |
| TRI | triaziny |
| TYR | tyrosinasa |
| URE | ureasa |

LITERATURA

- http://eagri.cz/public/web/file/615116/Vestnik_2019.pdf, staženo 23. 5. 2021.
- Kergaravat S. V., Fabiano S. N., Soutullo A. R., Hernandez S. R.: *Microchem. J.* **160**, 105654 (2021).
- Nagel B., Dellweg H., Gierasch L. M.: *Pure Appl. Chem.* **64**, 143 (1992).
- Martínková P., Kostelník A., Válek T., Pohanka M.: *Int. J. Electrochem. Sci.* **12**, 7386 (2017).
- Válek T., Pohanka M.: *Mil. Med. Sci. Lett.* **90**, 1 (2021).
- Mesulam M. M., Guillozet A., Shaw P., Levey A., Duysen E. G., Lockridge O.: *Neuroscience* **110**, 627 (2002).
- Pohanka M.: *Biomed. Pap.* **155**, 219 (2011).
- Colletier J. P., Fournier D., Greenblatt H. M., Stojan J., Sussman J. L., Zaccai G., Silman I., Weik M.: *EMBO J.* **25**, 2746 (2006).
- Štěpánková S., Vorčáková K.: *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **31**, 180 (2016).
- Cetrangolo G. P., Gori C., Rusko J., Terreri S., Manco G., Cimmino A., Febbraio F.: *Sensors* **19**, 4852 (2019).
- Rodrigues A. C. M., Barbieri M. V., Chino M., Manco G., Febbraio F.: *Anal. Bioanal. Chem.* **414**, 1999 (2022).
- Pohanka M., Žáková J., Sedláček I.: *Sens. Actuators, B* **273**, 610 (2018).
- Válek T., Kostelník A., Válková P., Pohanka M.: *Int. J. Anal. Chem.* **2019**, 8538340.
- Arduini F., Cinti S., Caratelli V., Amendola L., Palle-schi G., Moscone D.: *Biosens. Bioelectron.* **126**, 346 (2019).
- Bollella P., Fusco G., Tortolini C., Sanzo G., Antiochia R., Favero G., Mazzei F.: *Anal. Bioanal. Chem.* **408**, 3203 (2016).
- Mazzei F., Botre F., Montilla S., Pilloton R., Podesta E., Botre C.: *J. Electroanal. Chem.* **574**, 95 (2004).
- Vicentini F. C., Janegitz B. C., Brett C. M. A., Fati-bello-Filho O.: *Sens. Actuators, B* **188**, 1101 (2013).
- Sok V., Fragoso A.: *Microchim. Acta* **186**, 569 (2019).
- Sok V., Fragoso A.: *Int. J. Biol. Macromol.* **118**, 427 (2018).
- Kappaun K., Piovesan A. R., Carlini C. R., Ligabue-Braun R.: *J. Adv. Res.* **13**, 3 (2018).
- Bucur B., Munteanu F. D., Marty J. L., Vasilescu A.: *Biosensors* **8**, 27 (2018).
- Vaghela C., Kulkarni M., Haram S., Aiyer R., Karve M.: *Int. J. Biol. Macromol.* **108**, 32 (2018).
- Braham Y., Barhoumi H., Maaref A.: *Anal. Methods* **5**, 4898 (2013).
- Yi M., Zhou S., Zhang L., Ding S.: *Water Environ. Res.* **93**, 24 (2021).
- Kaur J., Singh P. K.: *Phys. Chem. Chem. Phys.* **22**, 15105 (2020).
- Singh B. K.: *Nat. Rev. Microbiol.* **7**, 156 (2009).
- Pundir C. S., Malik A., Preeti: *Biosens. Bioelectron.* **140**, 111348 (2019).
- Perumal V., Hashim U.: *J. Appl. Biomed.* **12**, 1 (2014).
- Jiaojiao X., Bin Z., Pengyun W., Qing L., Xin S., Rui J.: *Bioprocess Biosyst. Eng.* **43**, 293 (2020).
- Alhadrami H. A.: *Biotechnol. Appl. Biochem.* **65**, 497 (2018).
- Clark L. C., Jr., Lyons C.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **102**, 29 (1962).
- Sheliakina M., Arkhypova V., Soldatkin O., Saiapina O., Akata B., Dzyadevych S.: *Talanta* **121**, 18 (2014).
- Pohanka M.: *Talanta* **119**, 412 (2014).
- Mishra R. K., Hubble L. J., Martin A., Kumar R., Barfidokht A., Kim J., Musameh M. M., Kyratzis I. L., Wang J.: *ACS Sens.* **2**, 553 (2017).
- Cordova-Huaman A. V., Jauja-Ccana V. R., La Rosa-Toro A.: *Heliyon* **7**, e06259 (2021).
- Tang W., Yang J., Wang F., Wang J., Li Z.: *Anal. Chim. Acta* **1060**, 97 (2019).
- Pohanka M., Karasová J. Z., Kuča K., Pikula J., Holas O., Korábežný J., Cabal J.: *Talanta* **81**, 621 (2010).
- Matejovsky L., Pitschmann V.: *ACS Omega* **4**, 20978 (2019).
- Kostelník A., Pohanka M.: *Anal. Lett.* **51**, 1622 (2018).
- Zheng Z., Zhou Y., Li X., Liu S., Tang Z.: *Biosens. Bioelectron.* **26**, 3081 (2011).
- Meng X., Wei J., Ren X., Ren J., Tang F.: *Biosens. Bioelectron.* **47**, 402 (2013).
- Hlaváček A., Skládal P.: *Chem. Listy* **105**, 611 (2011).
- Wang P., Li H., Hassan M. M., Guo Z., Zhang Z. Z., Chen Q.: *J. Agric. Food Chem.* **67**, 4071 (2019).

44. Yao T., Liu A., Liu Y., Wei M., Wei W., Liu S.: *Biosens. Bioelectron.* *145*, 111705 (2019).
 45. Pohanka M.: *Rev. Anal. Chem.* *39*, 20 (2020).
 46. Pohanka M., Žáková J.: *Sensors* *21*, 1796 (2021).
 47. Kurata K.: *HardwareX* *9*, e00161 (2021).
 48. Chen G., Fang C., Chai H. H., Zhou Y., Li W. Y., Yu L.: *Sens. Actuators, B* *281*, 253 (2019).
 49. Anzalone G. C., Glover A. G., Pearce J. M.: *Sensors* *13*, 5338 (2013).
 50. Poh J. J., Wu W. L., Goh N. W. J., Tan S. M. X., Gan S. K. E.: *Sens. Actuators, A* *325*, (2021).
 51. Chao Y. T., Prabhu G. R. D., Yu K. C., Syu J. Y., Urban P. L.: *ACS Sens.* *6*, 3744 (2021).
 52. Bergua J. F., Alvarez-Diduk R., Idili A., Parolo C., Maymo M., Hu L., Merkoci A.: *Anal. Chem.* *94*, 1271 (2022).
 53. Bagheri N., Cinti S., Caratelli V., Massoud R., Saraji M., Moscone D., Arduini F.: *Biosens. Bioelectron.* *134*, 97 (2019).
 54. Wei J. C., Wei B., Yang W., He C. W., Su H. X., Wan J. B., Li P., Wang Y. T.: *Food. Chem. Toxicol.* *119*, 430 (2018).
 55. Rodrigues N. F. M., Neto S. Y., Luz R. C. S., Damos F. S., Yamanaka H.: *Biosensors* *8*, (2018).
 56. Fu Q. a 10 spoluautorů: *Anal. Chim. Acta* *1092*, 126 (2019).
 57. Silveri F., Della Pelle F., Scroccarello A., Ain Bukhari Q. U., Del Carlo M., Compagnone D.: *Talanta* *240*, 123212 (2022).
 58. Montes R., Cespedes F., Gabriel D., Baeza M.: *J. Nanomater.* *2018*, 1 7093606.
 59. Dominguez-Renedo O., Alonso-Lomillo M. A., Recio-Cebrian P., Arcos-Martinez M. J.: *Sci. Total Environ.* *426*, 346 (2012).
 60. No H. Y., Kim Y. A., Lee Y. T., Lee H. S.: *Anal. Chim. Acta* *594*, 37 (2007).
 61. Cai Y., Qiu Z. Y., Lin X. B., Zeng W., Cao Y. R., Liu W. P., Liu Y. J.: *Sens. Actuators, B* *321*, 128481 (2020).
 62. Andreou V. G., Clonis Y. D.: *Biosens. Bioelectron.* *17*, 61 (2002).
 63. Wang Z., Ma B., Shen C., Cheong L. Z.: *Talanta* *197*, 356 (2019).
 64. Zhao F., He J., Li X., Bai Y., Ying Y., Ping J.: *Biosens. Bioelectron.* *170*, 112636 (2020).
 65. Kong D. a 13 spoluautorů: *Biosens. Bioelectron.* *145*, 111706 (2019).
 66. Jin R., Kong D., Zhao X., Li H., Yan X., Liu F., Sun P., Du D., Lin Y., Lu G.: *Biosens. Bioelectron.* *141*, 111473 (2019).
 67. Kaur J., Bandyopadhyay D., Singh P. K.: *J. Mol. Liq.* *347*, (2022).
 68. Jin R., Wang F. Y., Li Q. Y., Yan X., Liu M. Q., Chen Y., Zhou W. R., Gao H., Sun P., Lu G. Y.: *Sens. Actuators, B* *327*, (2021).
- O. Keresteš and M. Pohanka** (*Faculty of Military Health Science, University of Defence, Hradec Kralove*): **Enzymatic Biosensors for the Environmental Analysis of Pesticides**
- This review article describes the background of enzyme-based biosensors and discusses selected examples of pesticide detection using these platforms. Although cholinesterases are still the most common enzymes for the analysis of commonly used pesticides, alternative enzymes for commonly used pesticides are also important and are highlighted. This article shows the current status of enzyme-based biosensors for the analysis of pesticides in the environment and discusses the prospects for future developments, in particular the use of open source electronics as a promising interface for wireless biosensing in the environment.
- Keywords: biosensor, enzyme, pesticide, point of care testing, environmental analysis, portable biosensors
- Keresteš O., Pohanka M.: *Chem. Listy* *116*, 358–364 (2022).
 - <https://doi.org/10.54779/chl20220358>

FYTOSTEROLY A STERYLGLYKOZIDY V POSTFERMENTAČNOM KUKURIČNOM OLEJI A ICH VPLYV NA KVALITU BIOPALÍV

MÁRIA HOLÍČKOVÁ^a, PETRA ONDREJČKOVÁ^b,
VALENTÍNA KAFKOVÁ^a a VERONIKA
CYPRICHOVÁ^b

^a Združenie Energy 21, Trnavská cesta 1033, Leopoldov 920 41, ^b Centrum výskumu a vývoja, s.r.o., Trnavská cesta 1033/7, Leopoldov 920 41, Slovenská republika
kafkova@enviengroup.eu

Došlo 21.6.21, prepracované 14.3.22, prijaté 22.3.22.

Kľúčové slová: biopalivá, sterylglukozidy, nízkoteplotné vlastnosti, precipitát, kukuričný olej, fytosteroly

● <https://doi.org/10.54779/chl20220365>

Obsah

1. Úvod
2. Vlastnosti fytosterolov a sterylglukozidov, ich vplyv na vlastnosti bionafty
 - 2.1. Vlastnosti fytosterolov
 - 2.2. Vlastnosti sterylglukozidov
 - 2.3. Vplyv sterylglukozidov na nízkoteplotné vlastnosti bionafty
3. Detekcia fytosterolov a sterylglukozidov v olejoch a návrhy ich redukcie
 - 3.1. Zastúpenie fytosterolov a sterylglukozidov v surovom kukuričnom oleji
 - 3.2. Distribúcia fytosterolov a sterylglukozidov pri predúprave kukuričného oleja a spracovaní na biopalivo
 - 3.2.1. Konvenčné postupy rafinácie oleja
 - 3.2.2. Inovatívne postupy na odstránenie SG
4. Záver

1. Úvod

Bionafta, resp. biodiesel (FAME – zmes metylesterov mastných kyselín) patrí do kategórie ekologických palív syntetizovaných najmä transesterifikáciou z obnoviteľných zdrojov energie (väčšinou z oleja poľnohospodárskeho pôvodu), vhodných pre naftové (spaľovacie) motory. FAME prispieva k zníženiu emisií CO₂ v atmosfére až o 70 % oproti fosílnym palivám¹. Konkrétny druh používanej suroviny na výrobu oleja používaného na výrobu bionafty súvisí so socio-ekonomickými aspektami a klimatickými podmienkami danej oblasti² a dostupnou výrobnou

technológiou. Na Slovensku a v ČR sa bionafta vyrába najmä spracovaním repkového oleja alebo zmesi oleja spolu s post-fermentačným kukuričným olejom, slnečnicovým olejom, použitým kuchynským olejom alebo živočíšnymi tukmi, pričom hlavnou zložkou zmesi zostáva repkový olej³. Úplné zloženie bionafty ako aj jej vlastnosti závisia predovšetkým od zloženia vstupného mixu surovín, ktoré sa navzájom môžu líšiť zastúpením mastných kyselín a ich derivátov⁴. Surovina použitá pri výrobe bionafty môže obsahovať zložky znižujúce kvalitu bionafty, ktoré spôsobujú niekoľko procesných a transportných problémov spojených s relatívne vysokou teplotou tuhnutia v porovnaní s fosílnou naftou². Existuje úsilie o elimináciu týchto nežiaducich zložiek z bionafty úpravou suroviny alebo čistením bionafty.

Steryglukozidy (SG) a glyceridy sa považujú za dve hlavné skupiny chemických látok, ktoré iniciujú tvorbu zrazeniny v bionafte a tým znižujú nízkoteplotné vlastnosti, napr. filtrovateľnosť^{5,6} a stabilitu bionafty.

Tento referát predstavuje základné informácie o fytosteroloch a SG v olejoch, so zameraním na post-fermentačný kukuričný olej, ktorý je lokálne dostupný vzhľadom na priemyselné spracovanie kukurice na bioetanol a súčasne má výrazne vyšší obsah fytosterolov v porovnaní s inými olejmi dostupnými na Slovensku⁷, a popisuje vybrané spôsoby odstraňovania SG z rastlinných olejov a bionafty.

2. Vlastnosti fytosterolov a sterylglukozidov, ich vplyv na vlastnosti bionafty

Steroly zohrávajú v rastlinných bunkách (fytoosteroly) významnú úlohu (regulačná, rastová, morfológická funkcia)⁵. V rastlinách sa nachádzajú voľné steroly, konjugované steroly vo forme sterylých esterov, sterylglukozidov a acyl-sterylglukozidov, ktoré sa navzájom líšia charakterom bočného reťazca a počtom a polohou dvojitých väzieb⁸. Steryglukozidy sú deriváty fytosterolov a glukózy vyskytujúce sa vo forme acyl-sterylglukozidu (ASG) alebo ako voľné sterylglukozidy⁹. Ich obsah v rastlinných olejoch je tiež spravidla v desatinách percenta¹⁰.

Fytoosteroly (FS) a ich estery tvoria prirodzenú súčasť prírodných tukov a olejov, kde ich obvyklý obsah zvyčajne predstavuje len niekoľko desiatin percenta a tvorí hlavnú zložku nezmydeliteľného podielu^{11,12}. Zložky nezmydeliteľného podielu môžu ovplyvňovať samotný proces výroby bionafty¹³ alebo výslednú kvalitu bionafty⁹.

2.1. Vlastnosti fytosterolov

Fytoosteroly sú prirodzené sa vyskytujúce bezfarebné kryštalické zlúčeniny s pomerne vysokým bodom topenia

a malou optickou otáčavosťou, ktoré sú štrukturálne podobné cholesterolom, no majú odlišné konfigurácie bočného reťazca. V rastlinných olejoch je prítomná zmes niekoľkých sterolov, z ktorých je najrozšírenejší β -sitosterol, kampesterol a sitostanol. Menej rozšírené sú stigmasterol, ergosterol, brassikasterol¹⁴. Fytosteroly rozdeľujeme na voľné a viazané alicyklické alkoholy. Fytosteroly majú bočný reťazec zložený z 9 alebo 10 atómov uhlíka, z celkového počtu 28 alebo 29 atómov uhlíka. Alkylový bočný reťazec môže tiež obsahovať dvojitzú väzbu¹⁵. Tieto steroly sa hydrogenáciou menia na fytostanoly. Fytosteroly a fytostanoly sú tuhej prachovitej konzistencie s vysokou teplotou topenia^{14,16}. Nie sú rozpustné vo vode a metanole, ale sú rozpustné v acetóne a etylacetáte, v chloroforme, dietyléteri a horúcom etanole. S kyselinou octovou ľahko tvoria kryštalické octany, z digitoninom nerozpustné adičné zlúčeniny a so zmesou acetanhydridu a kyseliny octovej tvoria červené sfarbenie (tzv. Liebermann-Burchardova reakcia)¹⁷.

Fytostanoly a estery fytosterolov sú chemicky stabilné materiály s porovnateľnými chemickými a fyzikálnymi vlastnosťami ako jedlé tuky a oleje¹⁵. Fytosteroly sa komerčne izolujú z rastlinných olejov, ako je sójový olej, repkový olej, slnečnicový olej alebo kukuričný olej¹⁴. Voľné steroly sú dobre rozpustné v bionafta na rozdiel od viazaných sterolov, napr. sterylglukozidov, ktoré sú nerozpustné².

2.2. Vlastnosti sterylglukozidov

Z chemického hľadiska sú sterylglukozidy glykolipidy, ktoré pozostávajú z rastlinného sterolu glykozidicky viazaného na molekulu glukózy¹⁸. Molekulová hmotnosť SG je v priemere 576 g mol⁻¹. Teplota topenia SG sa pohybuje v rozmedzí 240–290 °C. SG sú rozpustné v organických rozpúšťadlách¹⁹ a obmedzene rozpustné vo FAME: vytvárajú vrstvu medzi FAME a glycerínom po transesterifikácii²⁰. V čerstvej bionafta sú dobre rozpustné, časom pomaly kryštalizujú^{6,21}. Niektoré štúdie ukazujú, že

ich rozpustnosť sa zvyčajne pohybuje v rozmedzí 10–20 mg kg⁻¹ pri izbovej teplote^{6,21,22}. Vo vyšších koncentráciách sú nerozpustné a po niekoľkých dňoch sa začínajú uvoľňovať z roztoku, viazať na seba iné nečistoty a sedimentovať na dne nádrže. V oleji sa SG väčšinou nachádzajú v rozpustnej acylovanej forme ASG (masťná kyselina je estericky viazaná na alkoholovú funkčnú skupinu v molekule glukózy). V dôsledku hydrolyzy počas transesterifikačného procesu výroby biopalív sú tieto masťné kyseliny odstraňované počas alkalických procesov a dochádza k hromadeniu málo rozpustných sterylglukozidov²³, preto je vo všeobecnosti prítomnosť ASG v oleji, resp. SG v biopalive nežiaduca.

2.3. Vplyv sterylglukozidov na nízkotepelné vlastnosti bionafty

Vo všeobecnosti, bionafta môže spôsobovať viaceré procesné aj transportné problémy najmä pri preprave potrubnými systémami, či cisternami pri nízkych vonkajších teplotách⁹, ktoré súvisia s jeho relatívne vysokým bodom topenia v porovnaní s komerčnými fosílnymi palivami (tab. I).

Množstvo SG prítomných vo výslednej bionafta je teda podmienené nielen typom zdrojového rastlinného oleja s individuálnym spektrom masťných kyselín, ktorý bol použitý na výrobu bionafty, ale aj spôsobom predúpravy oleja, spôsobom spracovania FAME, intenzitou miešania, teplotou a dĺžkou skladovania⁶.

Počas výroby bionafty transesterifikáciou klesá polarita rozpúšťadla (TAG) s tým, ako sa TAG premieňa na FAME. Zároveň narastá polarita SG, ktoré vznikajú z mekej polárnych ASG, čím môže dôjsť k vzniku kryštálov a zrazenín v bionafta²⁰. SG sú považované za rozptýlené jemné tuhé častice, ktoré už pri množstve 35 mg kg⁻¹ podporujú kryštalizáciu ostatných látok v biopalive²³, časom vytvárajú sedimenty v bionafta, čo môže zvyšovať prevádzkové náklady skladovania a logistiky a môžu zhoršovať vlastnosti vyrobeného biopaliva.

Tabuľka I

Porovnanie nízkotepelných vlastností FAME z rastlinných olejov, živočíšnych tukov a dieslového paliva

| Druh suroviny použitej na výrobu FAME | Bod zákalu [CP, °C] | Bod tuhnutia [PP, °C] | CFPP [°C] | Obsah SG [mg kg ⁻¹] |
|---------------------------------------|---------------------|-----------------------|-----------|---------------------------------|
| Canola | -3 | -4 | -4 | 18 |
| Kukuričný olej | -3 | -4 | -7 | 480 |
| Palmový olej | 14 | 14 | 12 | 140 |
| Repkový olej ^a | -3 | -9 | -9 | - |
| Sójový olej | 0 | -2 | -2 | 25–270 |
| Slnečnicový olej | 2 | -3 | -2 | 18 |
| Tuk z hydiny | 4 | 6 | 1 | - |
| Použitie živočíšne tuky | 8 | 6 | 1 | - |
| Diesel | -31 | -46 | -42 | - |

^a <5 hm. % kys. erukovej; Zdroj: Dunn⁹

Dĺžka skladovania biopaliva vplýva na postupnú kryštalizáciu málo rozpustných SG na nerozpustné aglomeráty spôsobujúce dnové usadzovanie SG pri skladovaní.

Rovnako skladovanie pri nízkych teplotách zhoršuje vlastnosti paliva, prípadne vyvolávajúce prevádzkové problémy⁹.

Zákal bionafty môže vzniknúť aj pri izbovej teplote už pri koncentrácii voľných SG v rozmedzí 10–90 mg kg⁻¹ (cit.⁹). Podľa výskumu Bondioliho a spol.²⁰ už po siedmich dňoch skladovania bionafty z palmového oleja bolo dnovým usadzovaním množstvo SG znížené o viac ako 65 % (skladovanie pri 20 °C).

Prítomnosť vlhkosti môže komplikovať skladovacie problémy, pretože monoacylglyceroly aj diacylglyceroly majú amfifílnu povahu a môžu interagovať s vodou. Miešaním s nepolárnym (hydrofóbnym) podielom klesá rozpustnosť, čo môže spôsobiť urýchlenie zrážania. Tieto častice usadené na dne skladovacej nádrže môžu spôsobiť obmedzenie prietoku alebo upchatie filtrov v rozprašovačoch paliva vo vozidlách pri nízkych teplotách⁹. Napriek viacerým dostupným štatistikám, presná limitná koncentračná hodnota ASG a SG stanovená nie je, resp. rôzne zdroje ju uvádzajú rôznu²³.

Ako vidno z tab. I, jednoznačná korelácia medzi obsahom SG a *medznou teplotou filtrovateľnosti* (CFPP) nie je preukázaná. Spektrum voľných mastných kyselín (FFA) a obsah nezreagovaných acylglycerolov má na CFPP oveľa významnejší vplyv. Najmä etylestery mastných kyselín prítomné v KO, ktoré predstavujú viac ako 2 hm.% z celkového množstva esterifikovaných mastných kyselín, a ich fyzikálno-chemické vlastnosti sú zodpovedné za zvýšenú kinematickú viskozitu, ktorá narastá úmerne s dĺžkou uhlíkovodíkového reťazca zlúčeniny. To znamená, že etylestery sú viskóznejšie – menej tečúce pri nízkych teplotách – ako metylestery²⁴.

Cetánové číslo je pre etylester vyššie a bod zákalu nižší ako pre metylestery mastných kyselín, takisto kvôli dĺžke ich reťazca²⁵.

3. Detekcia fytosterolov a sterylglykozidov v olejoch a návrhy ich redukcie

Voľné fytosteroly dominujú v sójovom (0,24–0,45 %, cit.²⁶), olivovom a slnečnicovom oleji⁸. Slnečnicový olej

bežne obsahuje 0,34 % voľných sterolov a 0,28 % esterifikovaných sterolov¹⁰. Zastúpenie fytosterolov v olejoch sa značne mení, na čo poukazuje tab. II, v rámci štúdie zloženia rôznych druhov oleja. Variabilita v obsahu a zložení fytosterolov je podmienená spôsobom spracovania suroviny na výrobu oleja ako aj typom odrody²¹.

Post-fermentačný kukuričný olej (KO) je získavaný ako vedľajší produkt výroby bioetanolu z kukurice a je spracovávaný ako súčasť vstupného surovinového mixu pre produkciu bionafty. Pre možné primiešavanie KO ako pokročilej suroviny do surovinového mixu je nevyhnutné analyzovať obsah FS, príp. SG v surovom KO a ich distribúciu počas jednotlivých krokov predúpravy kukuričného oleja a výrobného procesu metylesteru z KO a KO(MEFA) – produkt kyslej esterifikácie KO. Je dôležité zdôrazniť, že profil a zloženie KO úzko súvisí s typom kukurice, s klimatickými podmienkami a sezónou pestovania¹⁶. Z toho vyplýva široký koncentračný rozsah a nutnosť analýzy týchto parametrov.

3.1. Zastúpenie fytosterolov a sterylglykozidov v surovom kukuričnom oleji

Fytosteroly sa nachádzajú vo všetkých prírodných tukoch a olejoch a zvyčajne tvoria hlavnú zložku nezmydeliteľného podielu. V analyzovanom kukuričnom oleji bol preukázaný 2,6% obsah nezmydeliteľných látok, ktoré sa považujú za zdroj vzniku tuhých častíc pri destilácii a výrobe bionafty. Na základe dostupných analýz surový kukuričný olej obsahuje celkovo 1,5–2 % fytosterolov, z čoho sa 50 % vyskytuje v inej ako voľnej forme²⁷. Analýzy vykonané pred a po zmydlení oleja kvantifikovali voľné a celkové množstvo sterolov. Súčet identifikovaných voľných sterolov v priamej analýze KO sa pohyboval v rozmedzí 5,7–8,4 g kg⁻¹. Tieto hodnoty sa po zmydlení viac ako zdvojnásobili (15,8–17,9 g kg⁻¹), čo naznačuje, že najmenej 50 % sterolov bolo vo viazanej forme²⁷.

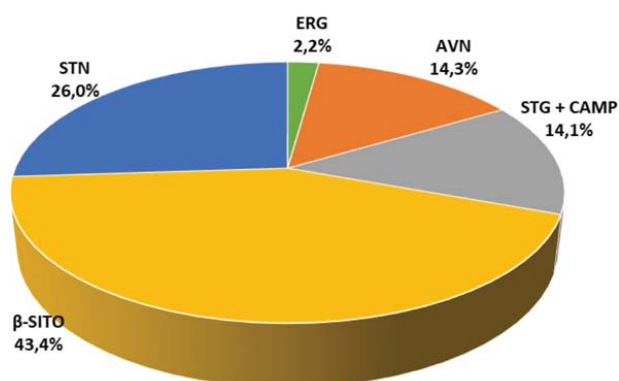
Beta-sitosterol, sitostanol, stigmasterol + kampesterol a ergosterol sú steroly identifikované v post-fermentačnom kukuričnom oleji na základe porovnania retenčných časov a UV spektrier s čistými štandardmi (obr. 1)²⁷. Výsledky HPLC-DAD a LC-MS/MS analýzy²⁷ potvrdili aj prítomnosť SG v surovom KO v množstve 110–120 mg kg⁻¹ (cit.⁷).

Tabuľka II

Typické zastúpenie fytosterolov (FS) a sterylglykozidov (SG) vo vybraných druhoch rastlinných olejov a v biodiesli vyrobenom z nich (mg kg⁻¹)

| | Obsah [mg kg ⁻¹] | Kukurica | Repka | Sója | Palma | Slnečnica |
|---------------|---------------------------------|----------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|
| Komerčný olej | FS | 11 800 | 6100 | 3600 | 2600 | 2100–4540 |
| | SG | 500 | 200 (cit. ²¹) | >2300 (cit. ⁹) | >2300 (cit. ⁹) | 200 (cit. ⁹) |
| Biodiesel | SG | 480 | 18 (cit. ⁶) | 25–270 | 140 | 18 (cit. ⁶) |

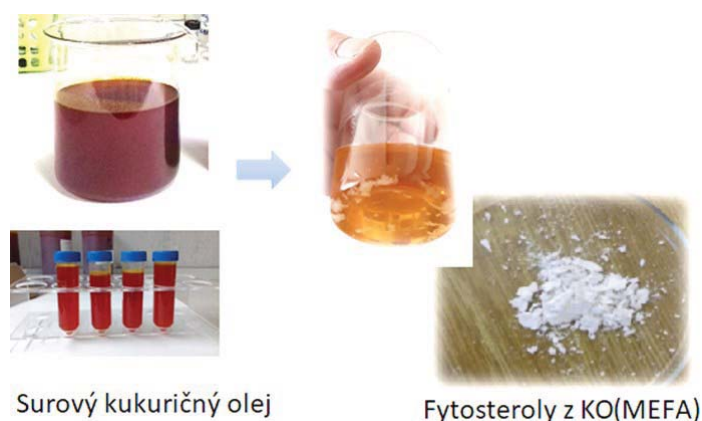
Zdroj: Tang⁶, Bondioli²⁰, Haupt²¹, Dunn⁹, Tang⁸



Obr. 1. Relatívne pomery jednotlivých skupín fytosterolov identifikovaných v post-fermentačnom kukuričnom oleji; hodnoty sú priemerom dlhodobého sledovania kvality oleja. (STN – sitostanol, ERG – ergosterol, AVN – avenasterol, STG – stigmasterol, CAMP – kampesterol, β-SITO – beta-sitosterol)⁷

3.2. Distribúcia fytosterolov a sterylglukozidov pri predúprave kukuričného oleja a spracovaní na biopalivo

V surovom KO sa steroly môžu vyskytovať vo všetkých vyššie spomenutých formách. Vo voľnej forme sú hydrofóbne, takmer nerozpustné vo vode a čiastočne rozpustné v tukoch. V esterifikovanej forme ako sterylestery sú v tukoch aj vo FAME rozpustné. Počas transesterifikácie dochádza k hydrolýze týchto esterov a stávajú sa z nich voľné steroly – nerozpustné látky, ktoré postupne kryštalizujú vo FAME (cit.¹⁴), v prípade použitia kukuričného oleja ako vstupnej suroviny v produkte transesterifikácie (metylestery kukuričného oleja) a vo vzniknutom produkte kyslej esterifikácie FFA fázy kukuričného oleja – KO (MEFA), obr. 2, cit.²⁸.



Obr. 2. Vstupný olej – post fermentačný kukuričný olej a separované prečistené fytosteroly z výsledného produktu kyslej esterifikácie KO(MEFA)

3.2.1. Konvenčné postupy rafinácie oleja

Rafinácia oleja sa konvenčne uskutočňuje vo viacerých krokoch: odslizovanie – odstránenie nerozpustných látok, neutralizácia – odstránenie FFA, sušenie – odstránenie vody, filtrácia – odstránenie nežiadúcich tuhých častíc, bielenie – odstránenie farebných látok, dezodorizácia – odstránenie pachových látok a prchavých kyselín. Výskumy Bondioliho a spol.²⁰ poukazujú na to, že úplná fyzikálna rafinácia bionafty umožňuje odstraňovanie SG v postačujúcej miere. Bieliaca hlinka sa používa na adsorpciu polárnych zlúčenín. Štúdia zároveň zistila, že v procese výroby bionafty dochádza v každom kroku k postupnému odstraňovaniu malého množstva SG. Naopak vplyv dezodorizácie na obsah SG bol vylúčený. Dezodorizáciou je však možné odstrániť až 24 % FS z celkového obsahu FS v surovom kukuričnom oleji. V rámci každého kroku rafinácie dochádza k odstraňovaniu určitého množstva FS a SG, čím sa zlepšujú vlastnosti výsledného produktu⁷. Výskum Tang a spol.⁶ ukazuje, že odstraňovanie SG z bionafty prebieha s väčšou efektivitou za zníženej teploty (až do $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$) a pri dlhšom čase skladovania. Ich výsledky odporujú niektorým tvrdeniam Bondioliho a spol.²⁰, keďže v štúdii preukázali pozitívny vplyv vodného degummingu (odslizenie) a destilácie na zníženie koncentrácie SG v bionaftě.

Odstránením týchto látok počas rafinačného procesu by sa zabezpečilo čiastočné vyriešenie technologických problémov v rafinériách. Výskum ukazuje, že napríklad rafinovaný sójový olej obsahuje až o 76 % menej SG ako surový sójový olej (pokles z 272 mg kg^{-1} na 64 mg kg^{-1})²⁹. Zároveň so stúpajúcou intenzitou extrakcie oleja stúpa aj pravdepodobnosť zvýšeného obsahu SG a ASG v surovom oleji. V lisovanom repkovom oleji bola takmer vždy zistená podstatne nižšia koncentrácia SG a ASG (cit.²¹).

3.2.2. Inovatívne postupy na odstránenie SG

Okrem vyššie uvedených postupov je možné zaradiť do procesu technologické zariadenia zahrievania, studenej filtrácie, ultrafiltrácie alebo membránového čistenia, ktoré

môžu odstraňovať SG s vyššou účinnosťou. Vplyv zahrievania surového oleja s cieľom znížiť obsah FS skúmali Thanh a spol.³⁰. Záver ich štúdie ukazuje, že zahriatie surového oleja na teplotu 200 °C po dobu 1 h spôsobilo zníženie množstva FS voči referencii až o polovicu (50–60 %). Steroly a prakticky aj SG pri týchto podmienkach oxidujú; vznikajúce peroxidy sa rozkladajú na menšie fragmenty. Podľa štúdie Na-Ranong a spol.³¹ je možné SG z bionafty odstraňovať aj ich adsorbovaním na magnéziovej silici, kedy za podmienok experimentu (65–80 °C; 1 hm.% MS) bolo odstránených 81,4–82,5 % SG. Okrem SG došlo aj k odstráneniu mono-, di- a triacylglyceridov, ktorých množstvo bolo v závislosti od obsahu SG znížené o 11–13 %. Autori Tremblay a Montpetit³² na odstraňovanie SG z FAME použili ultrafiltráciu. FAME pochádzalo z odsliženého (degumovaného) sójového oleja. Najväčšia miera filtrácie bola dosiahnutá pri použití 0,7 hm.% katalyzátora (metanolát sodný) a pomeru metanolu a oleja 4:1; množstvo odseparovaných SG bolo 86 %. Uvedené výsledky boli odôvodnené tým, že prítomnosť katalyzátora vo FAME spôsobuje deprotonizáciu SG, ktoré sa stávajú menej rozpustné vo FAME a viac rozpustné v polárnej fáze, k čomu dochádza, až pokiaľ sa hodnota pH polárnej fázy (metanol/glycerol) nevyrovná hodnote pKa sterylglykozidov (pKa (stigmasterylglykozid) = 12,21)³². Využitie týchto ďalších rafinačných postupov však znamená zvýšenie počiatkových a prevádzkových nákladov na rafinovanie oleja, resp. bionafty.

Vrstvu SG nie je možné odstrániť práním vodou²⁰, nakoľko v nej pri bežných neutrálnych podmienkach nie sú rozpustné. Všeobecne SG je možné štiepiť na glukózu a steroly pomocou silných anorganických (kys. sírová, chlorovodíková, fosforečná), či organických (kys. sulfónová) kyselín³³, prípadne silno kyslých ionexov (katexov). Následne je možné glukózu vyprať vodou a steroly oddestilovať od FAME.

Využitie špecifických enzýmov, najmä β -glukozidáz, a enzymatickej modifikácie kvality vstupnej suroviny (oleja rastlinného pôvodu), prípadne koncového produktu (FAME) a ciele odstraňovanie SG, ASG a iných minoritných kontaminantov tak, aby sa dosiahli zlepšené kvalitatívne vlastnosti oleja (oxidačná stabilita a nízkoteplotné vlastnosti) sa ukazuje ako udržateľné a efektívne riešenie³⁴. Súčasne je zachovaný environmentálne šetrný prístup³⁴ s perspektívnym komerčným využitím aj v zimných mesiacoch za dodržania špecifikácií daných platnými technickými normami (STN EN 14214) a internými predpismi výroby³⁵. Potenciálom pri riešení odstránenia SG z bionafty by mohli byť enzýmy, ktoré majú špecifickú aktivitu k SG a sú označované za sterylglykozidázy (SGase). SGase hydrolyzujú SG na glukózu a sterol. Štiepne produkty hydrolyzy SG – glukóza, no predovšetkým steroly – sa dajú ľahko odstrániť na bežných zariadeniach existujúcich biorafinérií (odstránenie glukózy po transesterifikácii premývaním vodou)³⁵ a majú potenciál stať sa ďalšími vedľajšími produktami biorafinérií s vysokou pridanou hodnotou. Štúdia Eberhardtovej a spol.³⁶ sa zaoberala odstraňovaním SG zo sójového FAME pomocou SGase. Enzým bol produkovaný *E. coli*, ktorá bola fermentovaná po dobu

25 h (1300 l, 37 °C, pH = 6,9, 30 % sat. kyslíka), pričom zdrojom uhlíka bol glycerol v koncentrácii 20 g l⁻¹. Experiment ukázal, že 7 g SGase dokáže priemerne odstrániť 100 mg kg⁻¹ SG. Teda z 1 litra kultúry je možné získať SGase využiteľnú na odstránenie SG z 1 t bionafty.

4. Záver

Kukuričný olej je vedľajší produkt technológie výroby bioetanolu momentálne spracovávaný v zmesi olejov ako vstupnej suroviny pri výrobe biopaliva FAME. Jedným z problémov aplikácie takéhoto FAME v doprave je potenciálna tvorba precipitátov, ktoré je potrebné odstrániť, aby sa zabezpečila oxidačná stabilita a optimálne nízkoteplotné vlastnosti bionafty. Zrazeniny, ktoré sú prítomné v bionafte, sú väčšinou zložené z monoglyceridov nasýtených mastných kyselín (SMG) a z SG, ktoré sa nachádzajú v bionafte v rozmedzí koncentrácií do 1500 mg kg⁻¹ pre SMG a 10 až 480 mg kg⁻¹ pre SG. Na dosiahnutie lepšej kvality bionafty je nevyhnutné odstrániť sterylglykozidové precipitáty, zatiaľ však nie sú k dispozícii žiadne efektívne nízko-nákladové metódy na odstránenie týchto zlúčenín v priemyselnom meradle³⁵. Environmentálne šetrný potenciál predstavujú rekombinantné enzýmy SGase, ktorých aplikáciou dochádza k hydrolyze SG na glukózu a sterol a tým aj vzniku a separácii štiepných produktov – látok s vysokou pridanou hodnotou. Produkcia enzýmov priamo vo výrobnjej prevádzke pozitívne ovplyvní uhlíkovú stopu biotechnologickej výroby a zvýši efektívnosť výroby biopalív, čím sa významne zvýši pozitívny účinok na globálnu klímu. Možnosť enzymatického optimalizovania zloženia a vlastností rastlinných olejov prispieje vo výraznej miere k zvýšenej efektívnosti a zníženiu nákladov výrobných postupov produkcie biopalív bez potrebných vysokých investičných nákladov na prestavbu alebo výmenu technológie, keďže aplikácia je možná v ktoromkoľvek kroku podľa podmienok konkrétneho enzýmu.

Vypracované s finančnou podporou Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky, Agentúrou na podporu výskumu a vývoja (APVV-18-0254).

Zoznam použitých skratiek

| | |
|----------|--|
| ASG | acylované sterylglykozidy |
| CFPP | medzná teplota filtrovateľnosti (°C, Cold Filter Plugging Point) |
| FAME | metylestery mastných kyselín (Fatty Acid Methyl Esters) |
| FFA | voľné mastné kyseliny (Free Fatty Acids) |
| FS | fytoosteroly |
| KO | kukuričný olej |
| KO(MEFA) | metylestery z kyslej esterifikácie FFA fázy kukuričného oleja |
| PP | bod tuhnutia (°C, Pour Point) |
| SG | sterylglykozidy |

TAG triacylglyceridy
SGase sterylglukozidáza

LITERATÚRA

- Hunicz J., Krzaczek P., Geca M., Rybak A., Mikulski M.: *Combust. Engines* 184, 72 (2021).
- Knothe G., v knihe: *Industrial Oil Crops* (McKeon T. A., Hayes D. G., Hildebrand D. F., Weselake R. J., ed.), kap. 2, str. 15. AOCS Press, Urbana, Illinois 2016.
- <https://www.meroco.sk/en/products/biodiesel-en>, stiahnuté 1. 4. 2021.
- Khethiwe E., Clever K., Jerekiyas G.: *Smart Grid Renewable Energy* 11, 165 (2020).
- Ferrer A., Altabella T., Arró M., Boronat A.: *Prog. Lipid Res.* 67, 27 (2017).
- Tang H., Salley S. O., Simon Ng K. Y.: *Fuel* 87, 3006 (2008).
- Ondrejčková P., Kafková V., Holíčková M., Cypričovská V., Gyuranová D., Krasňan V., Rebroš M.: *Proceedings of 8th International Conference on Chemical Technology, 3-5 May 2021, online konferencia* (Veselý M., Hrdlička Z., Hanika J., Lubojacký J., ed.), str. 309, Praha 2021.
- Tang H., De Guzman R., Salley S., Simon Ng K. Y.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* 87, 337 (2010).
- Dunn R. O.: *Prog. Energy Combust. Sci.* 35, 481 (2009).
- Johansson A.: *Lipids* 14, 285 (2006).
- Corn Refiners Association: <https://corn.org/wp-content/uploads/2009/12/CornOil.pdf>, stiahnuté 1. 4. 2021.
- Yang J., Astatkie T., He Q. S.: *Energy Rep.* 2, 211 (2016).
- Morales G., Bautista L. F., Melero J. A., Iglesias J., Sánchez-Vázquez R.: *Bioresour. Technol.* 102, 9571 (2011).
- Cantrill R., Kawamura Y.: <https://www.fao.org/home/en>, stiahnuté 1. 4. 2021.
- Fernandes P., Cabral J. M. S.: *Bioresour. Technol.* 98, 2335 (2007).
- Barrera-Arellano D., Badan-Ribeiro A. P., Serna-Saldivar S. O., v knihe: *Corn* (Serna-Saldivar S. O., ed.), kap. 21, str. 593. Woodhead Publishing, Duxford 2019.
- Pokorný J.: *Technologie tuků*. SNTL Praha, Praha 1986.
- Gerpen J. V., Brian He B., Duff K.: *Measurement and Control Strategies for Sterol Glucosides to Improve Biodiesel Quality: Isolation and Characterization of Acylated Steryl Glucosides in Oilseed Crops of the Pacific Northwest*. University of Idaho, Moscow 2010.
- Wilharm T. M.: *Rev. Palm.* 31, 136 (2010).
- Bondioli P., Cortesi N., Mariani C.: *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 110, 120 (2008).
- Haupt J., Brankatschk G., Wilharm T.: *Proceedings of 13th International Rapeseed Congress, 5-9 June 2011, Prague, Czech Republic* (bez editora), str. 1105, Praha 2011.
- Riazi M. R., Chiaramonti D.: *Biofuels Production and Processing Technology*. CRC Press, Boca Raton 2018.
- <http://www.biodieselmagazine.com/articles/1566/the-role-of-sterol-glucosides-on-filter-plugging>, stiahnuté 1. 4. 2021.
- Schober S., Wolf M., Mittelbach M.: *Energy Fuels* 24, 6693 (2010).
- Harrington K. J.: *Biomass* 9, 1 (1986).
- Wang T., v knihe: *Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses* (Gunstone F. D., ed.), kap. 3, str. 59. Blackwell Publishing Ltd., Chichester 2011.
- Di Lena, G., Sanchez del Pulgar J., Lombardi Boccia G., Casini, I., Ferrari N. S.: *Foods* 9, 1788 (2020).
- Enviral, a.s.: *Raĕinácia kukuričného oleja a výroba bionafy KOMÉ*, Leopoldov 2020.
- Camerlynck S., Chandler J., Hornby B., van Zuylen I.: *SAE Int. J. Fuels Lubr.* 5, 968 (2012).
- Thanh T. T., Vergnes M.-F., Kaloustian J., El-Moselhy T. F., Amiot-Carlin M.-J., Portugal H.: *J. Sci. Food Agric.* 86, 220 (2005).
- Na-Ranong D., Laungthaleongpong P., Khambung S.: *Fuel* 143, 229 (2015).
- Tremblay A. Y., Montpetit A.: *Biofuel Res. J.* 13, 559 (2017).
- Bönsch R., Eckhard S., Saft H., Ute R., Palauschek N., Hoffmann M.: DE102009006920 (C07J17/00).
- Aguirre A., Peiru S., Eberhardt F., Vetcher L., Cabrera R., Menzella H. G.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98, 4033 (2014).
- Peiru S., Aguirre A., Eberhardt F., Braia M., Cabrera R., Menzella H. G.: *Biofuels* 8, 223 (2015).
- Eberhardt F., Aguirre A., Paoletti L., Hails G., Braia M., Ravasi P., Peiru S., Menzella H.G.: *Bioprocess Biosyst Eng.* 41, 555 (2018).

M. Holíčková^a, P. Ondrejčková^b, V. Kafková^a, and V. Cypričovská^b (^a Association „Energy 21“, Leopoldov, Slovakia, ^b Centrum výskumu a vývoja, s.r.o., Leopoldov, Slovakia): **Steryl Glycosides in Postfermentation Corn Oil and Its Effect on the Biofuel Production**

Post-fermentation corn oil in transesterification process of biodiesel production is considered as feedstock causing major quality problems influencing both filterability and cold flow properties of crude biodiesel. Phytosterols and steryl glycosides (SG) occurring naturally in crude oil in acylated oil-soluble form are transformed during transesterification into unwanted non-acylated SG particles promoting sediments in final FAME (fatty acid methyl ester) product. Elimination and SG precipitates removal is necessary at industrial scale to achieve better biodiesel quality but preferably without significantly increasing costs of biodiesel production. Recombinant steryl glycosidase enzymes represent an environmentally friendly way

to reduce SG by its hydrolysis to glucose and sterols – substances with high added value. The production of enzymes directly in the production plant can positively affect the carbon footprint of biotechnological production and increase the efficiency, without high investment costs for conversion or technology change, since the application is possible at any production step with respect to specific enzyme conditions.

Keywords: biofuels, steryl glycosides, cold flow properties, precipitates, removal, corn oil, phytosterols

- Holíčková M., Ondrejčíková P., Kafková V., Cyprichová V.: Chem. Listy 116, 365–371 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/ch120220365>

Acknowledgement

This work was supported by grant from the Slovak Research and Development Agency (Grant number: APVV-18-0254).

NÁVRH ŠTRUKTÚRY, SYNTÉZA A BIOLOGICKÁ AKTIVITA NOVÝCH KARBAMÁTOVÝCH INHIBÍTOROV CHOLÍNESTERÁZ

LUCIA UNGVARSKÁ MALUČKÁ^{a,b} a JOZEF CSÖLLEI^b

^a Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra chémie, biochémie a biofyziky, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika, ^b Masarykova univerzita, Farmaceutická fakulta, Ústav chemických liečiv, Palackého třída 1946/1, 612 00 Brno, Česká republika

Lucia.Ungvarska.Malucka@uvlf.sk

Došlo 10.6.21, prepracované 28.3.22, prijaté 1.4.22.

Kľúčové slová: acetylcholinesteráza, butyrylcholinesteráza, syntéza, nové inhibitory, karbamátové deriváty, multifunkčne zamerané látky

• <https://doi.org/10.54779/chl20220372>

Obsah

1. Alzheimerova choroba
2. Syntéza nových karbamátových inhibítorov cholinesteráz
 - 2.1. Inhibitory acetylcholin/butyrylcholinesterázy
 - 2.2. Multifunkčne zamerané látky ako novodobé liečivá
 - 2.2.1. Rivastigminové hybridy
 - 2.2.2. Iné hybridné zlúčeniny
3. Záver

1. Alzheimerova choroba

Podľa najnovšej správy Svetovej zdravotníckej organizácie s názvom „Demencia – priorita verejného zdravia“ sa odhadovaný počet ľudí na celom svete, ktorí trpia demenciou, zvýšil na 36 miliónov a predpokladá sa, že každých 20 rokov sa toto množstvo takmer zdvojnásobí¹. Zo všetkých foriem demencie tvorí približne 60–70 % prípadov Alzheimerova choroba (ACH). ACH je neurodegeneratívne ochorenie, ktoré sa prejavuje progresívnou stratou pamäti a kognitívnych funkcií a ktoré môže viesť k invalidite a smrti. U pacientov s ACH je prítomná kortikálna atrofia, pričom dochádza k poklesu počtu neurónov hlavne v temporálnych a parietálnych lalokoch. Hlavnou neuropatologickou črtou ACH je prítomnosť neurofibrilárnych klobiek a senilných plakov obsahujúcich β -amyloid. Komplexná diagnostika ACH je zložitá a vyžaduje použitie

mnohých klinických a pomocných vyšetrení. Najskôr je dôležité zhodnotiť pamäť a ďalšie kognitívne funkcie pacienta pomocou krátkych či komplexných neuropsychologických testov. Ako sa uvádza v práci Fialová spol.², pri diagnostike ACH sa využíva metóda, ktorá sleduje triplet biomarkerov v mozgovomiešnom moku: β -amyloid 42 (A β 42), celkový tau proteín (t-tau) a fosforylovaný tau proteín (p-tau). Zmeny koncentrácie tripletu proteínov v extracelulárnej tekutine sa prejavujú aj v rôznych biologických tekutinách, v ktorých sa bežne vykonávajú laboratórne vyšetrenia. Obvykle sú biomarkery ACH stanovované v mozgovomiešnom moku a perspektívne sa zdá byť vyšetrenie aj z krvi, no opísané sú stanovenia aj z moču. Táto diagnostická metóda dokáže významne diferencovať kognitívne zdravé osoby od pacientov nielen s rozvinutou ACH, ale aj s miernou kognitívnou poruchou a poskytuje aj prognostickú informáciu².

Neuropatologické lézie môžu byť pozorované hlavne v mozgových oblastiach súvisiacich s pamäťou a učením. Zistenie, že tieto lézie ovplyvňujú hlavne cholinergný systém (ovplyvňuje funkcie vegetatívneho nervového systému; funkcie motorické, ale aj chovanie jedinca, pamäť a psychické funkcie) viedlo k hypotéze, podľa ktorej môže inhibícia degradácie neurotransmitera acetylcholínu spomaliť progresiu ACH. Za hydrolyzu acetylcholínu sú zodpovedné dva enzýmy: acetylcholinesteráza (AcChE) a butyrylcholinesteráza (BuChE). Pretože AcChE v centrálnom nervovom systéme bola pôvodne definovaná ako hlavný, zodpovedný enzým, považovala sa za jediný „cholinergný cieľ“ pri hľadaní nových liečiv pri terapii ACH. Najnovšie štúdie naznačujú, že AcChE aj BuChE sa podieľajú na regulácii bunkovej proliferácie a rastu neuritov počas vývoja centrálnej nervovej sústavy, a že BuChE môže zohrávať taktiež dôležitú úlohu v cholinergnej neurotransmisii^{1,3}. Napriek rôznym teóriám v rámci patogenézy ACH, je zvýšenie cholinergného prenosu stále hlavným prístupom pri liečbe ACH a inhibitory AcChE sú stále hlavným liekom farmakoterapie ACH. V súčasnej dobe je známa iba symptomatická liečba ACH, ktorá je zameraná hlavne na zlepšenie kognitívnych a pamäťových funkcií^{4,5}.

Klinicky sa používajú liečivá ako donepezil, rivastigmin a galantamín, zatiaľ čo takrín sa používa iba na výskum kvôli jeho hepatotoxicite. Inhibitory cholinesteráz odďaľujú progresiu symptómov ACH, zlepšujú denné aktivity i neuropsychiatrické symptómy^{6–8}. Donepezil a galantamín vykazujú relatívnu selektivitu voči acetylcholinesteráze, zatiaľ čo takrín a rivastigmin inhibujú aj butyrylcholinesterázu⁹. Závažnosť vedľajších účinkov spojených s vysokými dávkami napr. fyzostigminu podnietila snahu k hľadaniu ďalších inhibítorov cholinesteráz, ktoré sú bezpečnejšie a lepšie tolerované. Ako vhodní kandidáti sa ukázali zlúčeniny, ktoré vo svojej štruktúre obsahujú

karbamátovú funkčnú skupinu. Príkladom takýchto liečiv sú rivastigmín a experimentálne liečivo fenserín¹⁰.

Z tohto dôvodu je potrebné sa zamerať na syntézu nových liečiv na báze karbamátov, u ktorých by sa predpokladal vyšší inhibičný potenciál voči cholinesterázam a nové syntetické liečivá by tak mohli byť použité v terapii neurodegeneratívnych ochorení. Najnovšie výskumy ukazujú, že inhibítory cholinesteráz na báze karbamátových liečiv, resp. proliečiv zohrávajú dôležitú úlohu v terapii ACH, ale našli si uplatnenie aj pri terapii iných ochorení (napr. bambuterol – terapia astmy).

2. Syntéza nových karbamátových inhibítorov cholinesteráz

Inhibícia AcChE, resp. BuChE karbamátmi je založená na karbamoylácii serínu (Ser128 v BuChE) v katalytickom mieste enzýmu. Vysoká stabilita karbamátovej funkčnej skupiny v porovnaní s esterovou funkčnou skupinou zabezpečuje dostatočnú inhibíciu AcChE a BuChE. Nekarbamátová časť molekuly liečiva rozhoduje o selektivitě a môže zvyšovať účinnosť prostredníctvom nevážbových interakcií v aktívnom centre enzýmu^{11,12}.

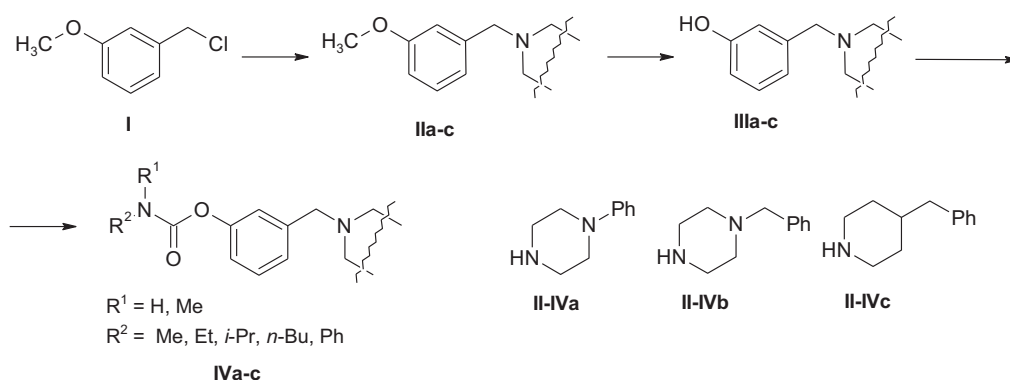
V súčasnosti sú dizajn a syntéza liečiv v rámci terapie ACH zamerané na prípravu takých zlúčenín, ktoré by ovplyvňovali niekoľko biologických systémov súčasne¹³. Pomocou tohto prístupu sa dva a viac farmakofórov kombinuje, spája v rámci jednej molekuly, pričom nová molekula, ako potenciálne liečivo, by mala mať vlastnosti, ktoré sú charakteristické pre oba východiskové farmakofóry. Tieto nové multipotentné zlúčeniny sa označujú ako „multi-target-directed ligands“ (MTDL)^{14,15}. Vo väčšine prípadov syntézy takýchto liečiv pre terapiu ACH je jedným z farmakofórov inhibítor cholinesterázy. Úspešnosť MTDL stratégie však stále potrebuje svoje potvrdenie v rámci klinického testovania.

2.1. Inhibítory acetylcholin/butyrylcholinesterázy

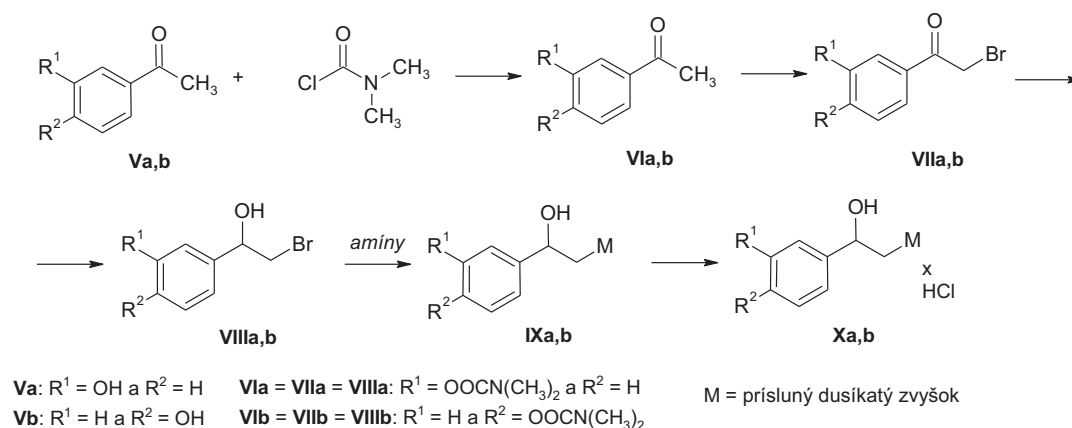
Bajda¹⁶ a jeho pracovná skupina sa zaoberali syntézou nových karbamátových derivátov (**IVa-c**), ktoré vo svojej molekule obsahujú *N*-fenylypiperazínový (**a**), *N*-benzylpiperazínový (**b**) a 4-benzylpiperidínový (**c**) heterocyklus. Karbamátové deriváty (**IVa-c**) boli pripravené trojstupňovou syntézou (obr. 1) z *m*-metoxybenzylchloridu (**I**). U pripravených zlúčenín (**IVa-c**) bola testovaná ich schopnosť inhibície enzýmov BuChE a AcChE a bola porovnaná s aktivitou takrínu a rivastigmínu. Najaktívnejším derivátom sa ukázal byť derivát s fenylpiperazínovým fragmentom (**IVa**) s hodnotou $IC_{50(BuChE)} = 2 \mu\text{mol l}^{-1}$.

V roku 2020 pripravila pracovná skupina pod vedením Wu¹⁷ päťstupňovú syntézu karbamátových derivátov (**Xa,b**), ktorých chemická štruktúra obsahovala arylaminoetanolový fragment (obr. 2). Celkovo bolo pripravených 16 derivátov s modifikáciou chemickej štruktúry v bázekej a karbamátovej časti, z ktorých deväť vykazovalo anticholinergnú aktivitu (AcChE aj BuChE) porovnateľnú s aktivitou rivastigmínu. Hodnoty inhibičnej aktivity pre rivastigmín boli $IC_{50(AcChE)} = 22,7 \pm 4,8 \mu\text{mol l}^{-1}$ a $IC_{50(BuChE)} = 0,785 \pm 0,056 \mu\text{mol l}^{-1}$. U dvoch zlúčenín boli zistené najnižšie hodnoty IC_{50} , *meta*-substituovaný karbamát 3-(2-(cyklohexylamino)-1-hydroxyetyl)fenyl dimetylkarbamát (**IXa**) s hodnotami $IC_{50(AcChE)} = 792,0 \text{ nmol l}^{-1}$, $IC_{50(BuChE)} = 2,2 \text{ nmol l}^{-1}$, a *para*-substituovaný karbamát 4-(2-(cyklohexylamino)-1-hydroxyetyl)fenyl dimetylkarbamát (**IXb**) s hodnotami $IC_{50(AcChE)} = 266,0 \text{ nmol l}^{-1}$ a $IC_{50(BuChE)} = 10,6 \text{ nmol l}^{-1}$.

V práci Hudcovej a spol.¹⁸ bola pripravená séria nových derivátov arylaminopropanónu s *N*-fenylypiperazínovým zvyškom (obr. 3) ako potenciálnych inhibítorov AcChE a BuChE. Šestnásť finálnych zlúčenín bolo pripravených dvojstupňovou syntézou z karbamátov (**XIIa-d**), ktoré boli získané z 4-aminofenylmetylketónu (**XI**). Inhibičné aktivity pripravených látok vyjadrené ako IC_{50} boli porovnané s referenčnými liečivami galantamínom a rivastigmínom, pričom ako najúčinnnejšie sa ukázali tri deriváty piperidínu (**XIIIa-c**). Predpokladaný mechanizmus in-



Obr. 1. Príprava nových karbamátových derivátov (**IVa-c**)



amíny: piperidín, pyrrolidín, morfolín, cyklohexylamín, cyklopentylamín, 2-fenylpropán-2-amin, anilín, 4-flóránilín, 4-jódanilín, 3-etinylanilín, 2-metylpropán-2-amin, 2-metylbután-2-amin

Obr. 2. Syntéza karbamátových derivátov s arylaminoetanovým fragmentom v molekule

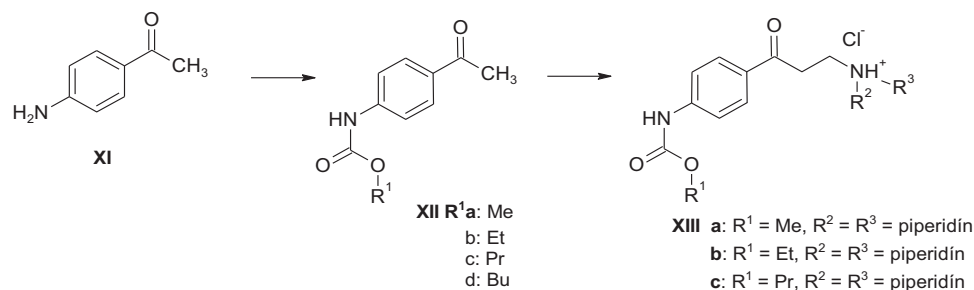
terakcie týchto troch derivátov (**XIIIa-c**) v aktívnom mieste AcChE bol určený zo štúdie molekulového modelovania pomocou kombinovaných techník dokovania, simulácií molekulárnej dynamiky a výpočtov kvantovej mechaniky.

Dvadsať nových salicylanilidových *N*-substituovaných karbamátových zlúčenín (**XVII**) bolo pripravených dvojstupňovou syntézou za použitia mikrovlnného žiarenia zo substituovaných derivátov kyseliny salicylovej (**XIVa,b**) a *p*-substituovaných aromatických aminov (**XVa-d**) (obr. 4). Anticholinesterázová aktivita bola u všetkých

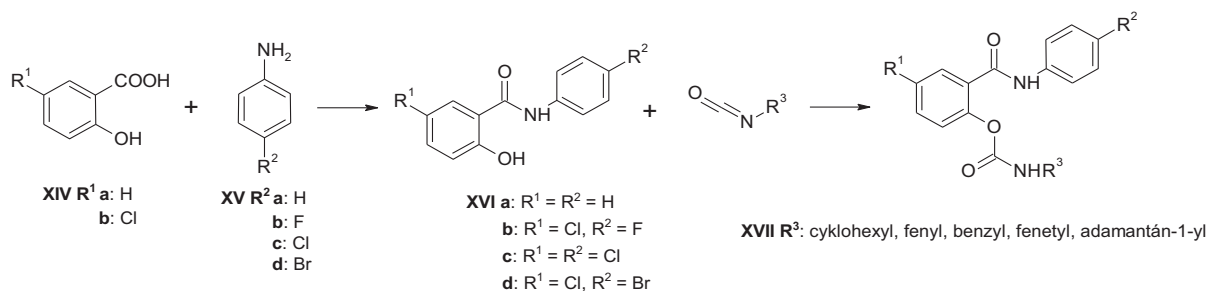
pripravených zlúčenín testovaná *in vitro* Ellmanovou metódou. Hodnoty IC_{50} karbamátových derivátov (**XVII**), ako inhibítorov AcChE a BuChE sa pohybovali v rozmedzí 5–235 $\mu\text{mol l}^{-1}$ a boli porovnávané voči liečivu rivastigminu¹⁹.

2.2. Multifunkčne zamerané látky ako novodobé liečivá

Príčinou komplexných ochorení, medzi ktoré patria aj neurodegeneratívne poruchy, je väčšinou niekoľko abnor-



Obr. 3. Syntéza karbamátových medziproduktov a finálnych zlúčenín (**XIIIa-c**)



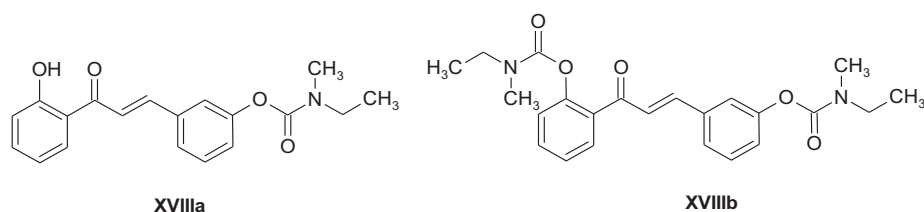
Obr. 4. Salicylanilidové *N*-monosubstituované karbamáty

malít na molekulárnej úrovni. Liečba zameraná iba na jednu zo známych abnormalít sa nestretla s príliš veľkým úspechom, pretože bunky sú schopné nájsť si spôsob, ako kompenzovať aktivitu proteínu, ktorý je ovplyvnený liečivom. Tento poznatok viedol k tomu, že sa začali navrhovať a syntetizovať chemické štruktúry liečiv, ktoré môžu súčasne ovplyvňovať niekoľko biologických cieľov²⁰. Pomocou tejto stratégie je dva a viac farmakofórov spojených do jednej molekuly. Nová, cieľová molekula tak disponuje vlastnosťami charakteristickými pre oba tieto farmakofóry. Pri návrhu takýchto molekúl v terapii ACH je jednou z molekúl inhibitor AcChE, čo momentálne tvorí základný pilier štandardnej terapie ACH. Multifunkčne zamerané látky (MTDL)^{21,22}, ako novodobé liečivá, by mali disponovať multipotentným účinkom v terapii ACH a môžu v sebe kombinovať aj priaznivý vplyv druhého farmakofóru, ako je napr. antioxidačná alebo chelatačná aktivita, inhibícia monoaminoxidázy A (MAO-A) a B (MAO-B), selektívna inhibícia spätného vychytávania serotonínu a pod.²³

2.2.1. Rivastigminové hybridy

Návrhom štruktúry, syntézou, *in silico* analýzou a biologickým výskumom nových 1,3-difenyprop-2-én-1-ónových derivátov (chalkónov), ako multifunkčne zameraných látok (MTDL), sa zaoberala pracovná skupina Sangá²⁴. Nové karbamátové deriváty s chalkónovým fragmentom boli pripravené dvojstupňovou syntézou. Na základe MTDL stratégie, chalkón-rivastigminové hybridy vykazovali inhibičnú aktivitu voči MAO-B a cholinesterázam. U pripravených zlúčenín boli testované aj chelatačné vlastnosti, za ktoré je zodpovedný chalkónový fragment. Tento fragment bol zodpovedný aj za inhibíciu A β -agregácie. Z testovaných zlúčenín najvyššiu selektivitu voči BuChE s hodnotou $IC_{50(BuChE)} = 3,1 \mu\text{mol l}^{-1}$ a $1,2 \mu\text{mol l}^{-1}$ vykazovali deriváty (XVIIIa, XVIIIb, obr. 5). U týchto dvoch látok bola zistená aj najvyššia selektivita a inhibícia enzýmu MAO-B, A β_{1-42} antiagregačná aktivita a selektívna chelatačná schopnosť Cu²⁺ a Al³⁺ iónov²⁴.

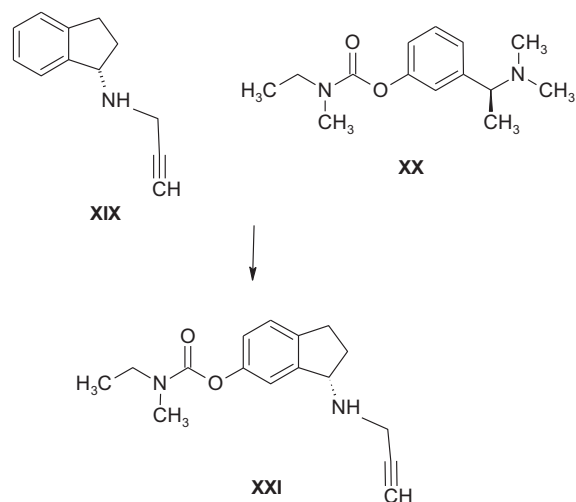
Ladostigil TV-3326 (XXI) (obr. 6) je aminoindanový derivát rasagilínu (XIX), v ktorom sa karbamátová funkčná skupina rivastigminu (XX) nachádza v polohe 6. Derivát (XXI) je v druhej fáze klinického výskumu v terapii ACH. U tejto zlúčeniny sa potvrdila inhibícia AcChE ako aj BuChE a inhibícia enzýmov MAO-A a MAO-B. Pôsobí aj antiapopticky a neuroprotektívne²⁵.



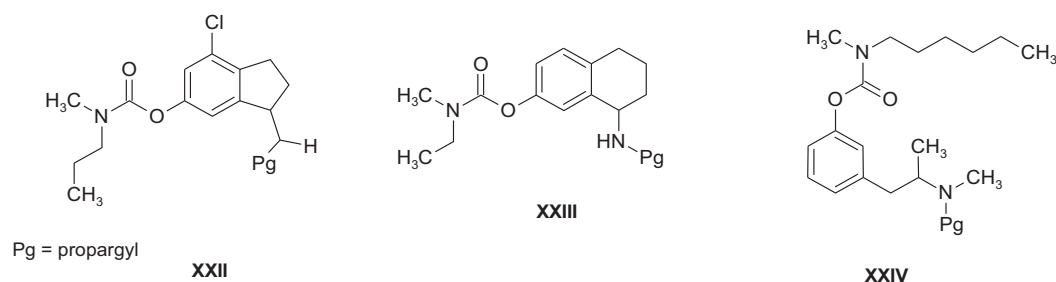
Obr. 5. MTDL liečiva s chalkónom a rivastigminovým farmakofórom

Sterling²⁶ a jeho pracovná skupina sa zaoberali návrhom štruktúry a syntézou karbamátových derivátov (obr. 7), v ktorých farmakofór rivastigmin a propargylamin rasagilínu/selegilínu (selektívne MAO-B inhibítory) boli navzájom spojené za vzniku nových karbamátových derivátov *N*-propargylaminoindánov a *N*-propargylfenetylaminov. Štúdium vzťahu štruktúry a aktivity (SAR) ukázalo, že vhodnými kandidátmi pre ďalší výskum sú zlúčeniny s indánovým (XXII), tetralínovým (XXIII) a fenetylaminovým skeletom (XXIV).

Kogen a spol.²⁷ publikovali prácu, v ktorej sa venovali syntéze nových hybridných MTDL molekúl, v ktorých boli finálne zlúčeniny pripravené kombináciou fluoxetinu (XXV) ako selektívneho inhibítora spätného vychytávania serotonínu (SSRI) s rivastigminom (XX, obr. 8). V poslednom reakčnom kroku došlo k cyklizácii a vzniku sedemčlánkového heterocyklického kruhu. Deriváty (XXVI) a (XXVII) vykazovali najvýraznejšiu aktivitu voči AcChE a selektívne inhibovali spätné vychytávanie serotonínu. Derivát (XXVI) s otvoreným sedemčlánkovým kruhom vykazoval duálnu aktivitu. Pre jeho (*S*)-enantiomér boli zistené hodnoty $IC_{50(AcChE)} = 101 \text{ nmol l}^{-1}$ a $IC_{50(SSRI)} = 42 \text{ nmol l}^{-1}$. U kondenzovaného derivátu (XXVII) boli najnižšie hodnoty pre $IC_{50(AcChE)}$ a $IC_{50(SSRI)}$ zistené pre čistý enantiomér (*R*), ($IC_{50(AcChE)} = 14 \text{ nmol l}^{-1}$,



Obr. 6. Príprava ladostigilu TV-3326



Obr. 7. Nové deriváty s propargylovou skupinou

$IC_{50(SSRI)} = 6 \text{ nmol l}^{-1}$). U zlúčeniny **XXVII** bolo zistené, že tento derivát netvorí konformačné izoméry v dôsledku prítomnosti metylamino skupiny a *o*-atómu uhlíka benzénového jadra, ktorý je súčasťou aj tetrahydroazepínového heterocyklu.

Telpoukhovskaia a spol.²⁸ pripravili nové hybridné zlúčeniny (**XXXI–XXXIII**), ktoré vznikli spojením molekuly rivastigminu (**XX**) s analógmi tioflavínu-T (**XXVIII**) a (**XXIX**) a deferiprónového analógu (**XXX**) prostredníctvom *O*-derivatizácie (obr. 9). Deriváty (**XXXI–XXXIII**) výrazne inhibovali AcChE no pri testoch cytotoxicity *in vitro* precipitovali. Najnižšia hodnota $IC_{50(AcChE)} = 20,9 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$ bola zistená u derivátu (**XXXII**) s benzo-tiazolovým heterocyklom. Viac ako dvojnásobne vyššia hodnota $IC_{50(AcChE)}$ bola zistená u zlúčeniny s deferiprónovým fragmentom (**XXXIII**), kde $IC_{50(AcChE)} = 48,8 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$. Trojnásobne vyššiu hodnotu (v porovnaní s derivátom **XXXII**) $IC_{50(AcChE)} = 58,2 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$ vykazoval benzoxazolový derivát (**XXXI**).

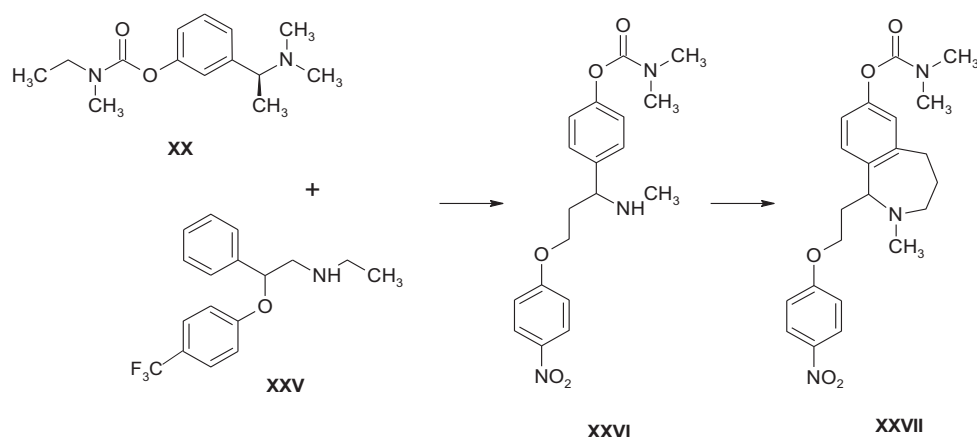
Návrhom štruktúry a syntézou MTDL molekúl s (2-metoxyfenyl)dimetyl karbamátovou skupinou sa zaoberal Li a spol.²⁹. Spojením rivastigminu (**XX**) s *o*-metoxyfenylovou skupinou kurkumínu (vychytávanie voľných radikálov, chelatácia kovov, inhibícia

A β -agregácie) bol získaný derivát s piperidín-1-ylmetyl substituentom (**XXXIV**), u ktorého bola zistená výrazná antiesterázová aktivita ($IC_{50(BuChE)} = 0,024 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$, $IC_{50(AcChE)} = 0,097 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$, obr. 10).

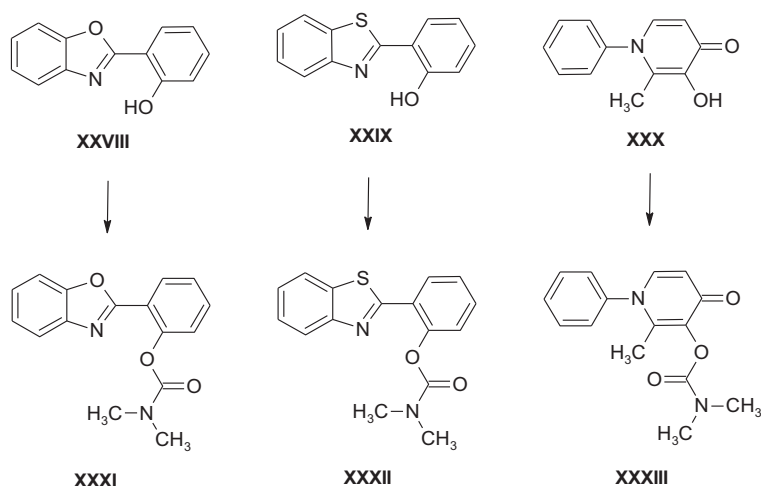
Spojením molekuly scutellarinu (**XXXV**) (vychytávanie voľných radikálov, protizápalová aktivita, komplexácia kovov, neuroprotektívne vlastnosti)^{30–33} s rivastigminom (**XX**) vznikli nové karbamátové zlúčeniny. U derivátu (**XXXVI**) (obr. 11) bola zistená inhibičná aktivita $IC_{50(BuChE)} = 22,6 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$ a $IC_{50(AcChE)} = 0,57 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$. Tento derivát vykazoval aj neuroprotektívny efekt a anti-oxidačnú aktivitu 1,3krát vyššiu v porovnaní s troloxom²⁸.

Wang a spol.³⁴ publikovali prácu, v ktorej sa venovali štúdiu chalkón-rivastigminových MTDL hybridov (obr. 12). Z pripravených derivátov sa ukázal najúčinnejší derivát (**XXXVIII**) s hodnotami $IC_{50(BuChE)} = 0,36 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$ a $IC_{50(AcChE)} = 0,87 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$.

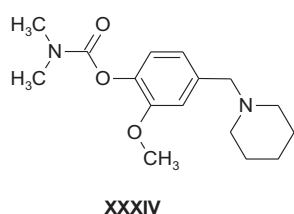
U nových hybridných molekúl označovaných ako MTDL, ktoré vznikli kombináciou apigenínu (**XXXIX**) s rivastigminom bola *in vivo* študovaná ich antioxidačná, ako aj anticholinesterázová aktivita. Bolo pripravených 11 derivátov z ktorých zlúčenina (**XLI**) sa ukázala ako najúčinnejší reverzibilný inhibítor ($IC_{50(AcChE)} = 6,8 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$) a ($IC_{50(BuChE)} = 16,1 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$). Okrem toho, derivát (**XLI**)



Obr. 8. Rivastigmin-fluoxetinové hybridy



Obr. 9. Prístup k príprave tioflavínu-T a deferiprónových hybridov

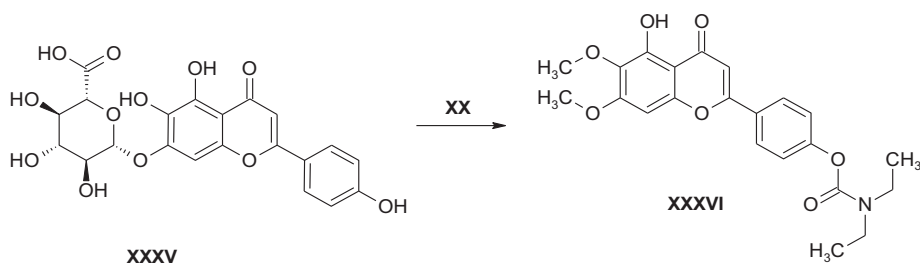


Obr. 10. 2-metoxy-4-[(piperidín-1-yl)metyl]fenyl dimetylkarbamat (XXXIV)

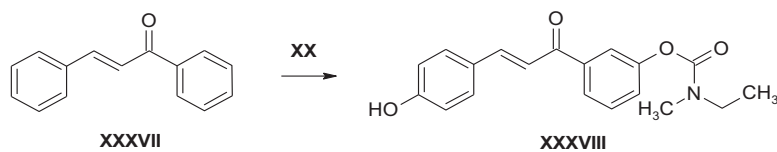
vykazoval aj silný chelatačný účinok k Cu^{2+} iónom a pôsobil hepatoprotektívne a neuroprotektívne³⁵. Najúčinnější derivát (XLI) bol pripravený jednostupňovou syntézou (obr. 13).

2.2.2. Iné hybridné zlúčeniny

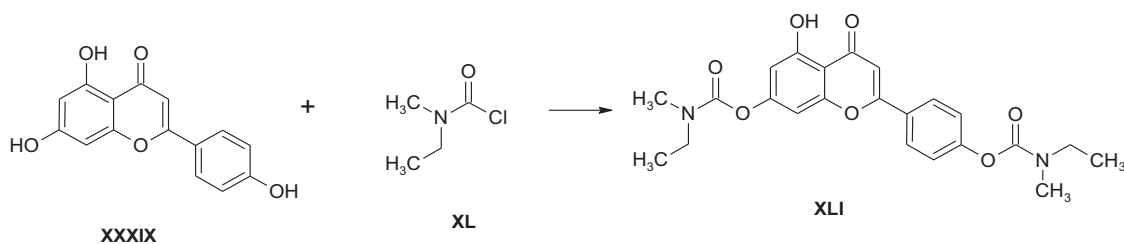
Bola pripravená séria 36 nových *N*-alkylpiperidínových karbamátov, u ktorých bola testovaná ich antiesterázová aktivita (AcChE a BuChE), antimonooxidázová aktivita (MAO-A a MAO-B) a $\text{A}\beta_{1-42}$ antiagregačná aktivita³⁶. Tieto deriváty boli pripravené MTDL stratégiou, kedy sa kombinovali fragmenty z viacerých molekúl liečiv (donepezil, fenserín, rasagilín), ktoré vykazujú selektívnu inhibíciu enzýmov AcChE a BuChE a MAO-B. Celkovo 36 derivátov bolo pripravených trojstupňovou syntézou



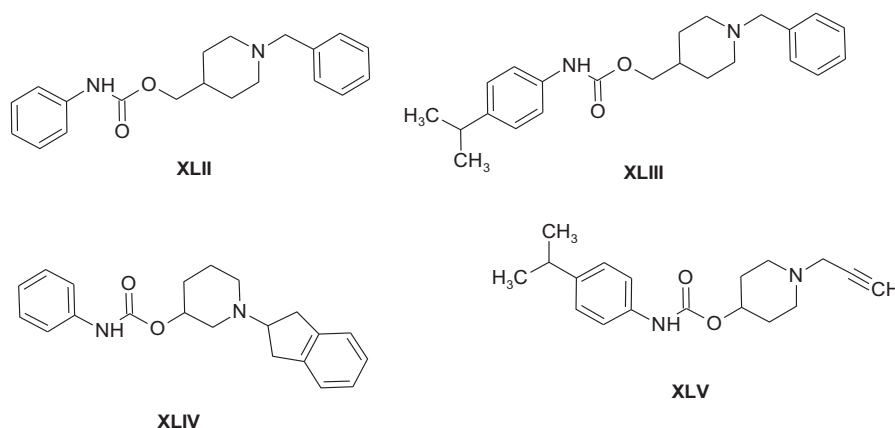
Obr. 11. Prístup k príprave scutellarinových hybridov s rivastigminovým farmakofórom



Obr. 12. MTDL hybridy s chalkónovým fragmentom v molekule



Obr. 13. Syntéza molekuly XLI



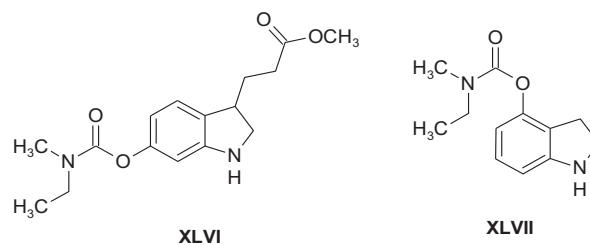
Obr. 14. MTDL hybridy s benzylpiperidínovým (XLII, XLIII) a piperidínovým fragmentom (XLIV, XLV)

z 3- resp. 4-substituovaných derivátov piperidínu s následnou alkyláciou atómu dusíka v heterocykle. Karbamátová funkčná skupina bola do molekúl (XLII–XLV) zavedená reakciou alkoholovej funkčnej skupiny s príslušnými derivátmi karbamoylchloridu (obr. 14). Derivát (XLII) s fenylovým a benzylovým substituentom vykázal inhibíciu všetkých troch vyššie spomenutých enzýmov. U derivátu (XLIII) s 4-izopropylfenylovým a benzylovým substituentom sa preukázal jeho duálny charakter v inhibícii AcChE a BuChE. Selektívna inhibícia BuChE bola zistená u zlúčeniny (XLIV) a derivát (XLV) s alkenylovým a aromatickým fragmentom selektívne inhiboval enzým MAO-B (cit.³⁶).

Indolínové karbamátové deriváty (XLVI) a (XLVII) pripravené Yanovskym³⁷ (obr. 15) obsahujú ako základ indolín-3-propánovú kyselinu, ktorá je prírodnou látkou s antioxidantnými vlastnosťami. Chemickou modifikáciou, zavedením karbamátovej funkčnej skupiny v polohách 4, 6, resp. 7 na indolínovom skelete boli pripravené vyššie spomenuté zlúčeniny, u ktorých sa potvrdil antioxidantný a neuroprotektívny účinok. Karbamátové deriváty (XLVI) a (XLVII) inhibovali enzýmy AcChE ako aj BuChE a mali schopnosť potláčať bunkovú smrť indukovanú oxidatívnym stresom v kardiomyocytoch.

3. Záver

Za posledných 20 rokov sa vedecký výskum v oblasti terapie ACh extenzívne zaoberá návrhom štruktúry a syntézou ligandov s účinkom zameraným na viac cieľov. Tento vývoj nepochybne dosahuje vynikajúce výsledky, a touto metódou bolo pripravených mnoho hybridných molekúl so zaujímavými biologickými vlastnosťami (napr. ladostigil). Aj keď niektoré hybridné molekuly uvádzané v práci sa do klinického testovania nedostali, štúdium ich biologických vlastností prispelo k porozumeniu komplexu patogenézy ACh. MTDL zlúčeniny vyvinuté pre terapiu



Obr. 15. Zlúčeniny odvodené od prírodnej látky indolínu

ACH majú tiež vlastnosti spojené s chelataciou kovov, vykazujú antioxidačnú a protizápalovú aktivitu a preventívne pôsobia proti A β -agregácii. Taktiež bránia aj nadmernému ukladaniu tau proteínu v mozgu pacientov postihnutých ACH. Návrh štruktúry MTDL molekúl môže byť tiež veľmi prospešný pre štúdie molekulového modelovania a výpočtov kvantovej mechaniky, ktoré môžu prispieť k objasneniu vzťahov štruktúry a účinku nových, účinnejších liečiv v terapii neurodegeneratívnych ochorení.

Zoznam skratiek

| | |
|------------------|--|
| A β 42 | β -amyloid 42 |
| ACH | Alzheimerova choroba |
| AcChE | acetylcholinesteráza |
| BuChE | butyrylcholinesteráza |
| IC ₅₀ | 50% inhibičná koncentrácia |
| MAO-A | monoaminoxidáza A |
| MAO-B | monoaminoxidáza B |
| MTDL | multifunkčne zamerané látky |
| p-tau | fosforylovaný tau proteín |
| SAR | štúdia zaoberajúca sa vzťahom medzi štruktúrou a aktivitou |
| SSRI | selektívny inhibítor spätného vychytávania serotonínu |
| t-tau | celkový tau proteín |

LITERATÚRA

- Wieckwska A., Wieckowski K., Bajda M., Brus B., Salat K., Czerwińska P., Gobec S., Filipek B., Malawska B.: *Bioorg. Med. Chem.* 23, 2445 (2015).
- Fialová L., Zima T., Bartoš A.: *Chem. Listy* 114, 537 (2020).
- Marucci G., Buccioni M., Dal Ben D., Lambertucci C., Volpini R., Amenta F.: *Neuropharmacology* 190, 108352 (2021).
- Jiráček R.: *Neurol. Praxi* 9, 240 (2008).
- Doležal M.: *Farmaceutická chemie léčiv působících na centrální nervový systém*, 1. vyd. Karolinum, Praha 2013.
- Birks J.: *Cochrane Database Syst. Rev.* 1, CD005593 (2006). DOI: 10.1002/14651858.CD005593.
- Birks J., Harvey R. J.: *Cochrane Database Syst. Rev.* 1, CD001190 (2006). DOI: 10.1002/14651858.CD001190.pub2.
- Loy C., Schneider L.: *Cochrane Database Syst. Rev.* 1, CD001747 (2006). DOI: 10.1002/14651858.CD001747.pub3.
- Lane R. M., Potkin S. G., Enz A.: *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 9, 101 (2006).
- Verheijen J. C., Wiig K. A., Du S., Connors S. L., Martin A. N., Ferreira J. P., Slepnev V. I., Kochendörfer U.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19, 3243 (2009).
- Bar-On P., Millard C. B., Harel M., Dvil H., Enz A., Sussman J. L., Silman I.: *Biochemistry* 41, 3555 (2002).
- Bacalhau P., San Juan A. A., Goth A., Caldeira A. T., Martins R., Burke A. J.: *Bioorg. Chem.* 67, 105 (2016).
- Morphy R., Rankovic Z.: *Curr. Pharm. Des.* 15, 6 (2009).
- Rampa A., Belluti F., Gobbi S., Bisi A.: *Curr. Top. Med. Chem.* 11, 2716 (2011).
- Cavalli A., Bolognesi M. L., Minarini A., Rosini M., Tumiatti V., Recanatini M., Melchiorre C.: *J. Med. Chem.* 51, 347 (2008).
- Bajda M., Łatka K., Hebda M., Jończyk J., Malawska B.: *Bioorg. Chem.* 78, 29 (2018).
- Wu J., Pistolozzi M., Liu S., Tan W.: *Bioorg. Med. Chem.* 28, 115324 (2020).
- Hudcová A., Kroutil A., Kubinová R., Garro A. D., Gutierrez L. J., Enriz D., Oravec M., Csöllei J.: *Molecules* 25, 1751 (2020).
- Krátký M., Štěpánková Š., Vorčáková K., Vinšová J.: *Bioorg. Chem.* 80, 668 (2018).
- Morphy R., Rankovic Z.: *Curr. Pharm. Des.* 15, 587 (2009).
- Rampa A., Belluti F., Gobbi S., Bisi A.: *Curr. Top. Med. Chem.* 11, 2716 (2011).
- Cavalli A., Bolognesi M. L., Minarini A., Rosini M., Tumiatti V., Recanatini M., Melchiorre C.: *J. Med. Chem.* 51, 347 (2008).
- Mishra P., Kumar A., Panda G.: *Bioorg. Med. Chem.* 27, 895 (2019).
- Sang Z., Wang K., Shi J., Liu W., Tan Z.: *Eur. J. Med. Chem.* 178, 726 (2019).
- Youdim M. B., Weinstock M.: *Cell. Mol. Neurobiol.* 21, 555 (2001).
- Sterling J. a 20 spoluautorov: *J. Med. Chem.* 45, 5260 (2002).
- Kogen H. a 14 spoluautorov: *Org. Lett.* 4, 3359 (2002).
- Telpoukhovskaia M. A., Patrick B. O., Rodriguez-Rodriguez C., Orvig C.: *Mol. Biosyst.* 9, 792 (2013).
- Li Y., Peng P., Tang L., Hu Y., Hu Y., Sheng R.: *Bioorg. Med. Chem.* 22, 4717 (2014).
- Guo L. L., Guan Z. Z., Huang Y., Wang Y. L., Shi J. S.: *Exp. Toxicol. Pathol.* 65, 579 (2013).
- Ghosh N., Ghosh R., Bhat Z. A., Mandal V., Bachard S. C., Nimae N. D., Sundayf O. O., Mandal S. C.: *Nat. Prod. Commun.* 9, 1045 (2014).
- Qian L., Shen M., Tang H., Tang Y., Zhang L., Fu Y., Shi Q., Li N. G.: *Molecules* 17, 10667 (2012).
- Sang Z., Li Y., Qiang X., Xiao G., Liu Q., Tan Z., Deng Y.: *Bioorg. Med. Chem.* 23, 668 (2015).
- Wang L., Wang Y., Tian Y., Shang J., Sun X., Chen H., Wang H., Tan W.: *Bioorg. Med. Chem.* 25, 360 (2017).
- Sang Z., Wang K., Shi J., Cheng X., Zu G., Wei R., Ma Q., Yu L., Zhao Y., Tan Z., Liu W.: *Eur. J. Med. Chem.* 187, 111958 (2020).
- Košak U. a 10 spoluautorov: *Eur. J. Med. Chem.* 197, 112282 (2020).
- Yanovsky I., Finkin-Groner E., Zaikin A., Lerman L., Shalom H., Zeeli S., Weill T., Ginsburg I., Nudelman A., Weinstock M.: *J. Med. Chem.* 55, 10700 (2012).

L. Ungvarská Maľučká^{a,b} and J. Csöllei^b
(^a *Department of Chemistry, Biochemistry and Biophysics, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Slovak Republic,* ^b *Department of Chemical Drugs, Faculty of Pharmacy, Masaryk University, Czech Republic*): **Design, Synthesis and Biological Activity of New Carbamate Cholinesterase Inhibitors**

The work deals with the design, synthesis and biological activity of new carbamate cholinesterase inhibitors. It is focused on selected syntheses of new carbamate derivatives, which were tested for their anticholinesterase activity against acetylcholinesterase as well as butyrylcholinesterase. Despite various theories in the pathogenesis of Alzheimer's disease, drugs that can inhibit these two enzymes still represent the major approach to the treatment of this neurodegenerative disease. Many of the newly synthesized compounds have unique chemical structure. Recently, the approach to the synthesis of new cholinesterase inhibitors

has focused on the preparation of potential drugs, containing in their chemical structure fragments of already known drugs, commonly used in the pharmacotherapy of Alzheimer's disease, but also other diseases. The aim of preparing these compounds is to affect several biological systems simultaneously. These multipotent compounds have been termed "multi-target-directed ligands"; the molecules of drugs used to treat Alzheimer's disease always contain a pharmacophore acting as a cholinesterase inhibitor, which represents the mainstay of therapy.

Keywords: acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, synthesis, new inhibitors, carbamate derivatives, multi-target directed ligands

- Ungvarská Maľučká L., Csöllei J.: Chem. Listy 116, 372–380 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220372>

PŮVODNÍ A METODICKÉ PRÁCE

HODNOCENÍ STABILITY PVC KNIŽNÍCH DESEK

**RADKA KALOUSKOVÁ, LENKA MALINOVÁ,
VÁCLAVA BENEŠOVÁ a JIŘÍ BROŽEK**

*Ústav polymerů, Fakulta chemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
jiri.brozek@vscht.cz*

Došlo 7.12.21, přijato 16.1.22.

Klíčová slova: polyvinylchlorid, degradace, tepelná stabilita, potenciometrická titrace, termogravimetrická analýza, infračervená spektroskopie

● <https://doi.org/10.54779/chl20220381>

Úvod

Vlivem působení světla a jiných faktorů dochází k deterioraci vlastností výrobků z plastů včetně knižních desek. Nejběžnějším materiálem je v tomto směru polyvinylchlorid, u něhož je zásadním problémem ztráta tepelné stability. V důsledku toho dochází ke změně barvy, změně elektrické vodivosti a v konečném důsledku ke zhoršení mechanických vlastností^{1,2}. Měkčené obaly pak podléhají migraci změkčovadla, případně maziva na povrch a v důsledku toho lze pozorovat křehnutí, praskání, odlupování desek a současně s tím i znečištění okolních objektů. Postupnou deterioraci materiálů z PVC lze sledovat celou řadou metodik – stanovením tepelné stability, teploty skelného přechodu, barevné změny, úbytku změkčovadla, mechanických vlastností či termogravimetrickou analýzou. Hodnocení je složité, neboť hodnotíme v naprosté většině obaly knih, které byly běžně používány a tedy podrobeny mnohaletému přirozenému stárnutí bez kvantifikace degradačních faktorů (světlo, teplo, vlhkost, umístění). Tyto degradační faktory často neznáme a nazýváme je historií daného obalu.

Zásadním pro stanovení rozsahu deteriorace je stanovení tepelné stability, a to minimálně na počátku testu a po určité době umělého (urychleného) stárnutí. Referenční i testované obaly s neznámou historií byly podrobeny umělému stárnutí v xenonové testovací komoře³. Tento proces simuluje stárnutí knižních obalů v muzejních podmínkách v rozsahu desítek let⁴. Z porovnání výsledků lze odvodit kvalitu stabilizačního systému.

Tepelná stabilita (TS) je charakterizována dobou, po níž se z tepelně namáhané směsi PVC (při 180 °C) nevol-

ňuje nebo téměř neuvolňuje chlorovodík⁵. TS závisí na množství a účinnosti stabilizátorů a s ohledem na aplikace i na tepelné a světelné historii materiálu, tj. uchování knih a zacházení s nimi. Kontinuální potenciometrické měření tepelné stability je přesné a reprodukovatelné, nicméně spotřeba testovaného materiálu je cca 0,2 g na jedno měření, což znamená invazivní zásah do testovaného polymerního obalu. Tyto analýzy můžeme provádět pouze u obalů vyřazených knih, popřípadě u nových folií určených pro kancelářskou galanterii.

U obalů knižních desek určených k restaurování jsme k stanovení rozsahu deteriorace, tedy „tepelné stability“, využili termogravimetrickou analýzu, při níž je čtyřicetkrát menší spotřeba vzorku v porovnání se stanovením TS. Termogravimetrickou analýzou (TGA) při konstantní teplotě, tj. v módu ISO, jsme sledovali úbytek materiálu s časem a korelovali jej s TS, stanovenou potenciometricky. Dále jsme hodnotili měkčené i neměkčené vzorky připravených směsí a především části knižních obalů s neznámou historií.

Experimentální část

Testované materiály

K analýze byly použity různé typy knižních desek technicky zaměřených knih z měkčeného PVC a vnitřní desky z neměkčeného PVC, vybraných ve spolupráci s Odborem ochrany knihovních fondů Národní knihovny ČR, viz tab. I. Dále byly k testům použity referenční folie (č. 7, 8 a 14), jejichž receptura simuluje složení směsí z počátku sedmdesátých let (připraveny válcováním při 160 °C) a komerční PVC folie (č. 13), aplikované v kancelářské galanterii.

Laboratorní techniky

Umělé stárnutí

Podmínky expozice byly nastaveny dle ČSN EN ISO 4892-2 (cit.³). Byl použit filtr simulující okenní sklo WINDOW, kalibrace při 420 nm, intenzita ozáření 1,10 W m⁻², teplota černého panelu 63±3 °C, teplota v komoře 38 °C, 30 % relativní vlhkosti. S ohledem na intenzitu osvětlení odpovídalo 193 h v Q-Sunu 40 letům expozici v muzeu při 200 lx (cit.⁴). Vzorky byly exponovány až 389 h.

Expozice monochromatickému světlu o vlnové délce 302 nm probíhala 74 a 266 h.

Stanovení tepelné stability

Množství uvolněného HCl ze směsi PVC v důsledku tepelné degradace bylo stanoveno kontinuální potenciometrickou metodou. Podstatou zkoušky je měření změn potenciálu absorpčního roztoku, ke kterému dochází po ab-

Tabulka I
Základní charakteristiky analyzovaných knižních materiálů a referenčních vzorků

| Vzorek | Obal z knihy | Vydavatel | Rok | TS [min] | TS ₃₈₉ [min] | T _g [°C] | T _{g389} [°C] |
|--------|--|--|--------|-------------|----------------------------|------------------------|---------------------------|
| 1 | V. Sýkora: Chemicko-analytické tabulky | SNTL Praha | 1974 | 25 | 0 | -4 | -2 |
| 2 | B. Janyš a kol: Příručka soustružníka | SNTL Praha | 1957 | 29 | 0 | -12 | 4 |
| 3 | Vyhláška č. 90/1975 Sb. | Nadas | 1975 | 11 | 4 | 3 | 1 |
| 4 | Chemická ročenka 1967 | SNTL/SVTL | 1967 | 75 | 0 | 0 | 2 |
| 5 | J. Kubík, F. Gřunděl: PVC výroba, zpracování a použití | SNTL Praha | 1958 | 25 | 0 | -3 | 21 |
| 6 | dtto 5 (nepoužívaný) | dtto 5 | dtto 5 | 27 | 7 | -4 | 11 |
| 7 | Referenční folie | – | 2018 | 55 | 30 | 77 | – |
| 8 | Referenční folie se změkčovadlem | – | 2018 | 110 | 52 | -23 | -21 |
| 9 | Kapesní atlas světa | USGK | 1964 | 50 | 15 | -13 | -7 |
| 10 | Pravidla silničního provozu | Nadas | 1976 | 20 | 5 | -2 | -5 |
| 11 | Česko-německý slovník ^a – obálka | SPN | 1965 | 60 | 0 | -10 | -6 |
| | Vnitřní výztužná deska | | | 55 | – | – | – |
| 12 | Podniková příručka, 2. ročník | SNTL Praha | 1959 | 37 | 0 | 2 | 2 |
| 13 | Komerční folie | produkt Fatra | 2017 | 170 | 42 | -16 | -8 |
| 14 | Referenční folie se změkčovadlem | – | 2017 | 120 | 80 | -19 | -19 |
| 22 | RC Formulation | Rhein-Chemie Rheinau GMBH – Mannheim | 1970 | 33 | 19 | -8 | – |
| 26 | Základy elektroniky ^a – obálka | SNTL | 1968 | >160 | – | – | – |
| | – vnitřní výztužná deska | | | 55 | – | – | – |

^a Expozice monochromatickému světlu; TS, TS₃₈₉ – tepelná stabilita výchozího vzorku, resp. vzorku po umělém stárnutí (po expozici v Q-sun); T_g, T_{g389} – teplota skelného přechodu výchozího vzorku, resp. vzorku po umělém stárnutí (DMA). Referenční vzorky: (7) neměkčený stabilizovaný PVC (tepelný stabilizátor na bázi Ca/Zn, epoxidovaný sójový olej, stearín); (8) měkčený stabilizovaný PVC [31 % bis(2-ethylhexyl)-ftalátu (DEHP) a dibutyl-ftalátu (DBP) jako změkčovadlem, tepelný stabilizátor na bázi Ca/Zn, epoxidovaný sójový olej, stearín]; (14) – měkčený stabilizovaný PVC (29 % změkčovadlem DEHP a DBP, stabilizátory na bázi Ca/Zn a Sn, fosfit, TiO₂, stearín)

sorpce HCl uvolněného ze vzorku PVC (100–200 mg) v průběhu namáhání při 180 °C v prostředí vzduchu⁵.

Stanovení obsahu změkčovadla

Obsah změkčovadla byl stanoven extrakcí diethyletherem, resp. methanolem či toluenem (na 0,1 g vzorku 10 ml rozpouštědla). Vzorky byly zahřívány pod zpětným chladičem třikrát 30 min. Poté byly opláchnuty čistým rozpouštědlem a sušeny při 40 °C do konstantní hmotnosti. Úbytek hmotnosti byl vyjádřen procentuálně.

FTIR spektroskopie

Měření infračervených spekter (IČ) bylo provedeno v laboratoři molekulové spektroskopie centrálních laboratoří VŠCHT Praha. Vzorky byly změřeny ve formě lisovaných destiček o tloušťce 0,4–0,6 μm. IČ spektra byla měřena transmittanční technikou spektrometrem FTIR značky NICOLET 740 (detektor DTGS, dělič paprsků KBr) v rozsahu 4000–400 cm⁻¹.

Termogravimetrická analýza

Měření bylo provedeno na přístroji Discovery TGA550 Auto Advanced (TA Instruments, USA) při konstantní teplotě 180 °C v atmosféře dusíku (průtok 60 cm³ min⁻¹) s navážkou vzorku ≈5 mg. Výsledky analýzy byly vyhodnoceny v programu TRIOS.

Dynamická mechanická analýza

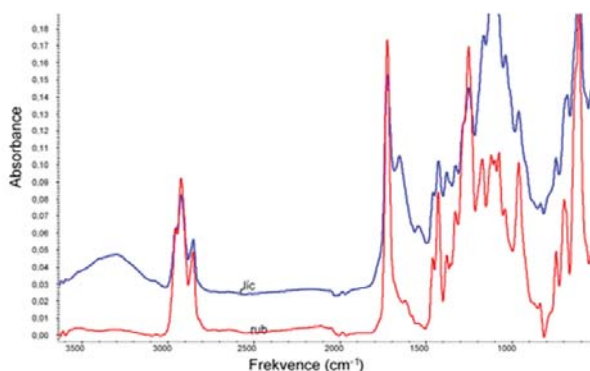
Teplota skelného přechodu vzorků knižních desek byla stanovena dynamickou mechanickou analýzou (DMA) na přístroji DMA DXO4TC (RMI, ČR). Vzorky byly periodicky namáhány napětím v ohybu za konstantní deformace ±1 mm. Teplotní rozsah se pohyboval od -40 °C do 100 °C s rychlostí ohřevu 3 °C min⁻¹. Teplota skelného přechodu byla odečtena v maximu ztrátové složky dynamického modulu E''.

Výsledky a diskuse

Hodnocení stability knižních desek FTIR spektroskopii

Nejjednodušší neinvazivní detekční metodou, v muzejnictví hojně užívanou, je FTIR spektroskopie. Poměrně složité formulace PVC směsí knižních desek, případné povrchové úpravy (např. nátěry) apod., kvalitativní i kvantitativní identifikaci komplikují, výsledky nejsou často jednoznačné. To se projeví např. v odlišných spektrech vrchní a spodní části obálky (obr. 1).

Zaměříme-li se na určení změkčovadel, přítomných v PVC obálkách, z FTIR analýz obálek a jejich extraktů (v etheru, methanolu, popř. toluenu) vyplývá, že všechny testované vzorky obsahují detekovatelné množství ftalátů. Na obr. 2 jsou uvedeny FTIR záznamy vybraných vzorků č. 6, 9, 10, 14 a 22. Nicméně v akreditovaných laborato-



Obr. 1. FTIR spektra lícové a rubové strany knižní obálky (vzorek č. 5)

řích v řadě vzorků překvapivě nebyla přítomnost většího množství ftalátů potvrzena, jak je uvedeno v tab. II.

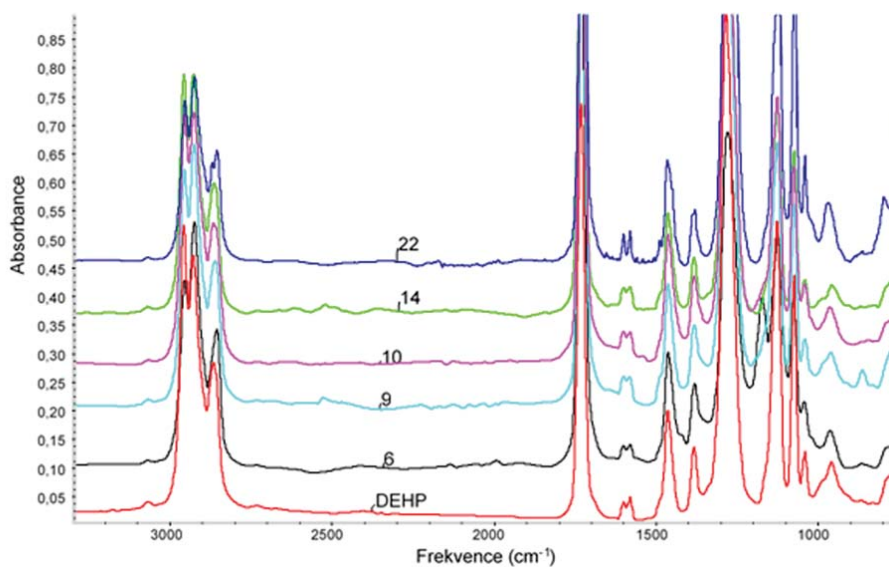
Poměry maxim absorpčních pásů charakterizujících valenční vibrace karbonylové skupiny (1727 cm^{-1}) a valenční vibrace C=C jader samotného bis(2-ethylhexyl)-ftalátu (DEHP – 1600 cm^{-1}) a extraktu z ref. folie č. 14, měkčené pouze ftaláty, jsou téměř shodné (tab. III). Vyšší hodnoty poměrů u ostatních vzorků naznačují, že obalový materiál byl měkčen i jiným esterovým změkčovadlem než ftalátem, nicméně podíl ftalátů je v nich značný.

Tabulka II

Množství extrahovatelných podílů a obsah ftalátů v knižních obalech

| Vzorek | w_1 [%] | w_{DBP} [%] | w_{DEHP} [%] | w_{ether} [%] |
|--------|-----------|----------------------|-----------------------|------------------------|
| 1 | 25,5 | 0,6 | 13,3 | 27,0 |
| 2 | 24,5 | 1,1 | 6,9 | 20,7 |
| 3 | – | – | – | 23,7 |
| 4 | 22,6 | 0,9 | 2,3 | 20,4 |
| 5 | 21,2 | 0,7 | 1 | 16 |
| 6 | 23,16 | 0,71 | 1,23 | 17,1 |
| 8 | – | – | – | 27,2 |
| 9 | 21,25 | 0,58 | 1,21 | 17,4 |
| 10 | 25,23 | 0,69 | 10,95 | 21,4 |
| 12 | 21,57 | 0,73 | 2,28 | 17,4 |
| 22 | 26,42 | 0,16 | 1,24 | 21,5 |

w_1 – obsah změkčovadel; w_{DBP} – obsah dibutylftalátu ve vzorku; w_{DEHP} – obsah bis(2-ethylhexyl)-ftalátu ve vzorku, vše stanoveno dle ČSN EN 14372, bod 6.3.2.5 v referenční laboratoři; w_{ether} – obsah změkčovadel stanovený extrakcí diethyletherem



Obr. 2. Záznam FTIR spekter etherových extraktů vzorků 6, 9, 10, 14, 22 a spektrum bis(2-ethylhexyl)-ftalátu (DEHP)

Tabulka III

Poměry intenzit absorpčních pásů u 1727 cm^{-1} a 1600 cm^{-1} ze spekter ftalátů (bis(2-ethylhexyl)-ftalátu – DEHP a diisononyl-ftalátu – DINP) a extraktů referenční folie č. 14 a vzorků knižních desek

| Vzorek | DEHP | DINP | 6 | 9 | 10 | 14 | 22 |
|---------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| A_{1727}/A_{1600} | 18,0 | 19,9 | 21,9 | 21,9 | 22,3 | 17,4 | 21,8 |

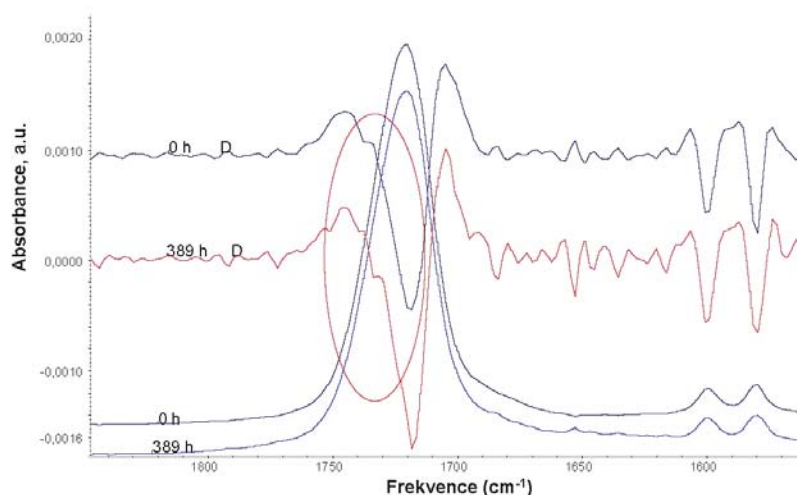
Tabulka IV

Poměr A_{1727}/A_{2920} hodnot intenzit píku u 1727 cm^{-1} charakterizujícího karbonylové skupiny (výška pásu při vlnočtu, paty pásu $1855\text{--}1510\text{ cm}^{-1}$) a píku u 2920 cm^{-1} , který náleží $-\text{CH}_2-$ skupinám (paty pásu $3560\text{--}2500\text{ cm}^{-1}$) v měkčeném PVC

| Vzorek č. | 2 | 6 | 14 |
|-------------------|------|------|------|
| Výchozí | 1,63 | 1,08 | 1,97 |
| Po 389 h stárnutí | 1,82 | 2,00 | 2,25 |

Hodnocení tepelné stability knižních desek potenciometrickou kontinuální titrací

Jednoznačně lze rozsah degradace a stávající odolnosti knižních desek z PVC vyjádřit hodnotou tepelné stability (TS). U testovaných obálek je tato hodnota, ve srovnání s referenčními foliemi (vz. 7, 8, 13 a 14), relativně nízká (tab. I), což vzhledem k době užívání není překvapivé. Po umělém stárnutí většina knižních desek české provenience vykazuje žádnou nebo nízkou hodnotu TS (vzorky č. 1–6,

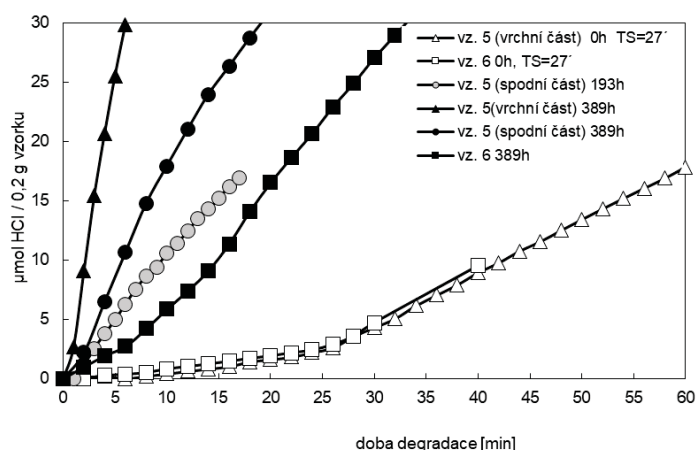


Obr. 3. FTIR spektra vzorku č. 14, vystaveného umělému stárnutí po dobu 0 h a 389 h a 2. derivace záznamů (D)

FTIR spektroskopii lze zachytit i degradační procesy v aplikovaném PVC, např. úbytek změkčovadla ($1720\text{ až }1730\text{ cm}^{-1}$) či v důsledku neutralizační reakce s HCl úbytek stabilizátoru (např. karboxyláty, $1510\text{ až }1540\text{ cm}^{-1}$)⁵. Fotooxidace vede ke vzniku nových kyslíkatých struktur (např. esterových vazeb) na řetězci, což se na FTIR spektru projeví zvýšenou absorpcí pásu charakterizujícího C=O skupiny a posunem maxima k nižším vlnovým délkám (1733 cm^{-1} , obr. 3, tab. IV). Změna intenzity absorpce těchto pásů je v tab. IV vyjádřena změnou podílu maxim pásů, odpovídajících karbonylovým a methylenovým skupinám (stejný jev lze pozorovat u ploch píků). V případě venkovního stárnutí (děšť) lze zaznamenat i produkty hydrolýzy esterových změkčovadel (karboxylový anion cca 1600 cm^{-1})⁶.

10–12; tab. I, obr. 4), některé desky tmavnou a křehnou⁷. Lze předpokládat, že při nešetřném zacházení budou tyto obálky při běžných aplikačních podmínkách postupně deteriorovat. S procesem stárnutí a poklesem TS je úzce spojena i migrace změkčovadla z PVC obálek a tedy zvyšování teploty skelného přechodu a jejich křehnutí. Jako příklad lze uvést obálky č. 5 a 6, viz tab. I. Obálka č. 5 je součástí knihy, která byla 60 let běžně používána, zatímco obálka č. 6 byla většinu času uložena v zásuvce. TS i barva obou vzorků je stejná, viz obr. 4, ale obálka č. 5 obsahuje struktury (např. karbonylové skupiny, konjugované dvojné vazby) vzniklé přirozeným stárnutím, které přispívají k podstatně rychlejší degradaci vlivem dodatečného umělého stárnutí. Vzorek č. 5 na rozdíl od vzorku č. 6 po 389 hodinách umělého stárnutí zčernal.

Navíc, ke stárnutí nemusí docházet na všech místech jedné knižní desky stejně a místa chráněná před světlem mohou vykazovat vyšší TS, příp. vyšší barevnou trvanlivost



Obr. 4. Závislost množství HCl uvolněného z PVC desek na době tepelného namáhání (180 °C, vzduch); vzorek č. 5 a 6, výchozí (0 h) a uměle stárnutý (193 a 389 h)

Tabulka V

Tepelná stabilita (TS, min) různých částí knižní desky z PVC (vzorek č. 3)⁸

| Část knižní desky | TS [min] |
|------------------------------|----------|
| Vnější vrchní deska | 11 |
| Hřbet knižní desky | 28 |
| Vnitřní neměkčená část vazby | 82 |

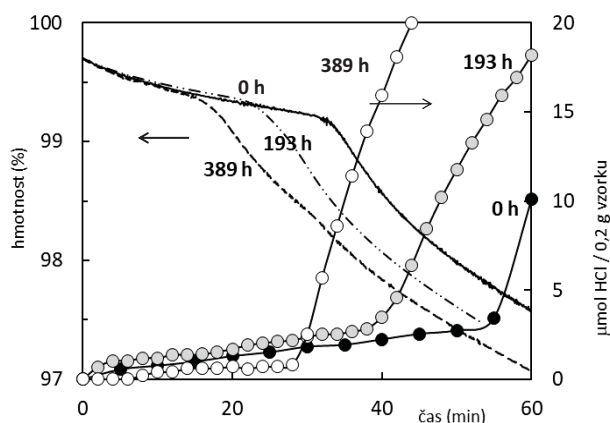
Tabulka VI

Tepelná stabilita vzorku č. 22 po umělém stárnutí⁸

| Doba umělého stárnutí [h] | TS [min] |
|---------------------------|----------|
| 0 | 33 |
| 193 | 28 |
| 389 | 19 |

(obr. 4, tab. V).

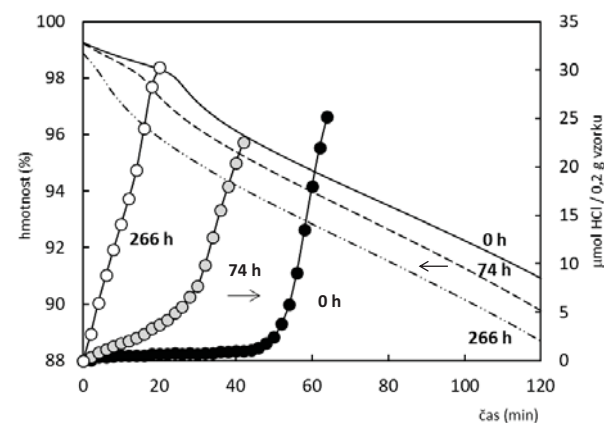
Obálky knih zahraniční proveniencí (např. vzorek č. 22, tab. I a VI) a některé české (vzorky č. 9 a 26) jsou značně odolnější. Ačkoli TS výchozích vzorků není vysoká a po stárnutí klesá, vzorek je stále chráněn přítomným antidegradačním systémem. Lze předpokládat, že stabilizační systém materiálu na těchto deskách obsahuje stále účinný světelný a tepelný stabilizátor, což je důležitá informace pro další využívání knih s těmito obálkami.



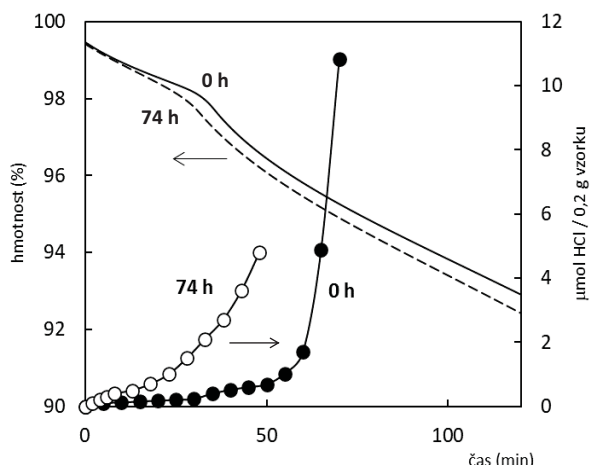
Obr. 5. Záznam TGA v ISO módu při 180 °C a dehydrochlorační křivky výchozího (0 h) a stárnutého (193 a 389 h) vzorku č. 7

Stanovení tepelné stability termogravimetrickou analýzou

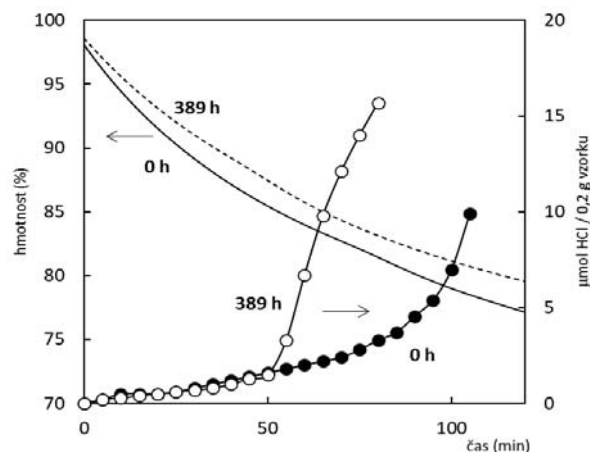
Zachycení degradačních změn pomocí termogravimetrické analýzy je, jak už bylo zmíněno vzhledem k pestrému a často neznámému složení knižních desek z PVC, komplikované. S cílem dosáhnout jednoznačného stanovení a především korelace s potencimetrickým měře-



Obr. 6. Záznam TGA v ISO módu při 180 °C a dehydrochlorační křivky výchozího (0 h) a stárnutého (74 h expozice monochromatickému světlu o $\lambda = 302$ nm a 266 h) vzorku č. 26 (neměkčená část vazby)



Obr. 7. Záznam TGA v ISO módu při 180 °C a dehydrochlorační křivky výchozího (0 h) a stárnutého (74 h expozice monochromatickému světlu o $\lambda = 302$ nm) vzorku č. 11 (tvrdá část vazby)



Obr. 8. Záznam z měření TGA při 180 °C v prostředí vzduchu a dehydrochlorační křivky výchozího (0 h) a stárnutého (389 h) referenčního vzorku č. 8

ním jsme proto volili měření TGA v ISO modu, při teplotě 180 °C v prostředí vzduchu. Míra degradace vzorků byla opět vyjádřena tepelnou stabilitou TS_{TGA} , tj. dobou, po kterou je tepelný stabilizátor funkční a neuvolňuje se HCl. Po spotřebování stabilizátoru dojde spolu s uvolňováním HCl k prudkému poklesu hmotnosti vzorku.

Relevantnost měření byla studována nejprve na neměkčeném referenčním vzorku (obr. 5) a na vzorcích z neměkčených částí pevných knižních obálek (vnitřní výztužná deska, obr. 6 a 7). V obou metodikách se doba funkčnosti stabilizátoru se stárnutím vzorku zkracuje.

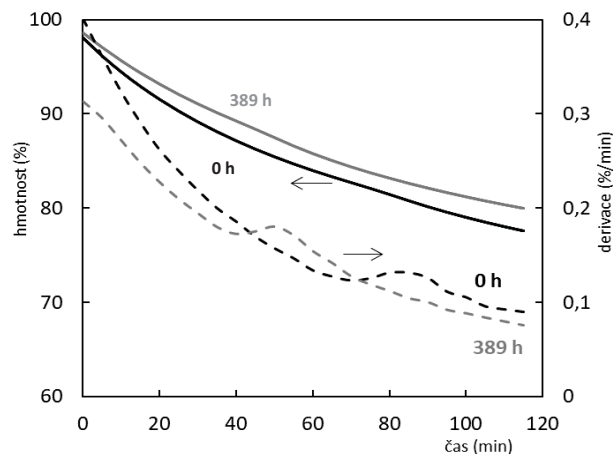
V případě měření TGA v ISO modu (180 °C) je cca 0,5% úbytek hmotnosti vzorku spojen s uvolněním vlhkosti či jiných těkavých látek. Hodnota tepelné stability zaznamenaná při tomto měření tvoří přibližně 60 % hodnoty stanovené potenciometrickou titrací a nepochybně souvisí s množstvím vzorku, rychlostí vyhřátí, s objemem měřicí cely a průtokem nosného plynu. Nicméně výsledky z obou měření jsou v korelaci.

Použitý materiál je však vesměs měkčený a při zahřívání v průběhu TGA dochází vedle dehydrochlorace i k rapidnímu úbytku nízkomolekulárních organických komponent (např. změkčovadla, viz obr. 8). Zatímco TS lze potenciometricky stanovit bez problémů, při hodnocení pomocí TGA v ISO modu dochází k úbytku materiálu od počátku měření, na křivce nejsou zlomy indikující uvolňování HCl. Řešením není extrakce změkčovadla ze vzorků určených k TGA, neboť při extrakci dochází k mírnému poklesu TS testované obálky, přičemž míra změny nepochybně závisí na typu stabilizačního systému. Může tedy dojít k nekontrolovanému zkreslení výsledků.

Řešením by mohlo být vyhodnocení záznamu derivační termogravimetrie (TG). Přijatelných výsledků bylo zatím dosaženo u referenčního vzorku č. 8, u kterého maxima derivace TG křivek odpovídají hodnotám TS.

V případě vzorků z knižních obálek nebyly píky na derivační TG křivce v smysluplné korelaci s dehydrochloračními měřeními.

Lze jednoznačně konstatovat, že TGA je citlivější než potenciometrické měření, úbytek HCl je zaznamenán dříve a k měření je třeba pouze čtyřicetina vzorku. Nevýhodou je, že zaznamenává úbytek všech látek uvolněných při 180 °C, takže je bez problémů aplikovatelná pouze u neměkčených směsí PVC. V případě měkčených směsí je možným řešením testování pomocí TGA v kombinaci s následnou IR spektroskopií.



Obr. 9. Záznam z měření TGA křivek a jejich 1. derivace pro výchozí (0 h) a stárnutý (389 h) referenční vzorek č. 8 (180 °C, v prostředí vzduchu)

Závěr

Záměrem studie bylo posouzení stavu a odolnosti PVC knižních desek v průběhu stárnutí. Vzhledem ke skutečnosti, že historie knih archivovaných cca 40–60 let (tj. způsob jejich používání a uchovávání) není známa, o současném stavu PVC desek těchto knih vypovídá hodnota tepelné stability (TS), která není vysoká. V důsledku dodatečného umělého stárnutí nadále klesá.

Na rozdíl od stanovení TS je infračervená spektroskopie neinvazivní metodou, avšak není vždy možné její pomocí jednoznačně prokázat stav poklesu tepelné stability vzorku a vyčerpání stabilizátoru zpomalujícího dehydrochloraci a neutralizujícího odštěpený chlorovodík. Změnu TS desek u neměkčeného PVC lze spolehlivě zaznamenat TGA v ISO módu.

Testy stárnutí ukázaly, že knihy s PVC deskami bude možné uchovávat v depozitářích další desetiletí bez zjevného poškození.

Tato práce vznikla za podpory projektu DG18PO2OVV001 – Syntetické materiály v knihovnických fondech v rámci programu NAKI II Ministerstva kultury ČR. Autoři děkují Ing. Petře Vávrové, Ph.D., a jejím kolegyním z Národní knihovny ČR za poskytnutí vzorků.

LITERATURA

1. Wypych G. (ed.): *PVC Degradation and Stabilization*. ChemTec Publishing, Toronto 2020.
2. Zweifel H. (ed.): *Plastics Additives Handbook*. Hanser Publisher, Munich, 2009.
3. ČSN EN ISO 4892-2: *Plasty – Metody vystavení laboratorním zdrojům světla – Část 2: Xenonové lampy* (Příklad E, AATCC TM16-93) (červen 2006).
4. Lagana A., Van Osten T.: *ICOM- CC 16th Triennial Conference* (Bridgland J., ed.). Lisbon 2011.
5. Kalousková R., Novotná M., Vymazal Z.: *Polym. Degrad. Stab.* 85, 903 (2004).
6. Matys J.: *Vliv změkčovadel na vlastnosti směsí PVC. Diplomová práce*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha 2009.
7. Kalousková R., Benešová V., Malinová L., Brožek J.: *Sborník konference, 41. Mezinárodní český a slovenský kalorimetrický seminář* (Černošek Z., Holubová J., Černošková E., ed.), str. 133. Univerzita Pardubice, Pardubice 2019.
8. Kalousková R., Brožek J., v knize: *Kapitoly z konzervace a restaurování plastů II* (Vávrová P., ed.), str. 27. Technické muzeum v Brně, Brno 2021.

R. Kalousková, L. Malinová, V. Benešová, and J. Brožek (*Department of Polymers, University of Chemistry and Technology Prague*): **Evaluation of the Stability of PVC Book Covers**

When determining the state of deterioration of book covers made of softened polyvinylchloride, which is essential for the choice of conservation strategy, we are limited by the sample amount available for analytical evaluation. Infrared spectroscopy, as opposed to potentiometric titration, not always allows to unambiguously prove the decrease of sample thermal stability, nor the depletion of the stabilizer, the presence of which slows down dehydrochlorination and neutralizes released hydrogen chloride. For unplasticized PVC samples, the time loss of weight determined by thermogravimetric analysis at 180 °C correlates with the amount of released hydrogen chloride obtained from potentiometric titration. The stability of the packages is closely linked to the history and handling of the books. It can be assumed that, with careful use and storing in the library depositories, book covers will remain functional for several decades.

Keywords: polyvinylchloride, degradation, thermal stability, potentiometric titration, thermogravimetric analysis, infrared spectroscopy

- Kalousková R., Malinová L., Benešová V., Brožek J.: *Chem. Listy* 116, 381–387 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220381>

Acknowledgements

The authors acknowledge the support of Ministry of Culture of the Czech Republic (project DG18PO2OVV001).

Metrohm demonstrační laboratoř na Univerzitě Karlově





74. Sjezd chemiků

4. – 7. září 2022, Olomouc

<https://sjezd74.csch.cz>



Sekce:

- Anorganická a bioorganická chemie
- Organická a bioorganická chemie
- Fyzikální chemie a materiálová chemie
- Analytická chemie
- Elektrochemie
- Chemické vzdělávání a historie chemie
- Termická analýza
- Porézní 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 Šalitroš, Ph.D. (STU Bratislava)

Vážené kolegyně, vážení kolegové,

dovolujeme si Vás pozvat jménem organizačního výboru na 74. sjezd chemiků, který se po deseti letech vrací do centra úrodné Hané, do Olomouce. Pevně věříme, že tak, jak je tato krajina mlékem a strdím oplývající, bude i tento sjezd zdrojem mnoha informací a inspirací pro všechny jeho účastníky. Sjezd chemiků je již tradičně příležitostí k setkávání nejen členů České nebo Slovenské společnosti chemické, ale všech chemiků, učitelů, studentů a přátel chemie. Chemie je přece jen jedna a prolíná se do mnoha odvětví lidské činnosti. A právě setkávání a sdílení toho dobrodružství vědy, které zažíváme v laboratořích nad baňkami, aparaturami nebo přístroji, je kořenem našeho chemického života. Prosim, přijměte naše pozvání na tuto akci, jejímž cílem je ukázat zajímavou vědu, pokusit se o větší propojení s průmyslem, přinést atraktivní společenský program, podpořit všechny mladé a zkusit využít moderní komunikační prostředky.

Těšíme se na viděnou na sjezdu!

*Tomáš Navrátil
předseda ČSCH, předseda organizačního výboru*

*Jan Petr
předseda místního organizačního výboru*

SNADNÉ A PŘESNÉ MÍCHANÍ PLYNŮ V LABORATORNÍM MĚŘÍTKU

Reklamní článek

Ve výzkumu a výrobních provozech často potřebujeme přesně řídit složení atmosféry, ve které naše procesy probíhají. Velké směšovače plynů do průmyslových provozů příliš nevyhovují svým rozsahem průtoků laboratornímu a poloprodučnímu měřítku, případně nám neposkytnou dostatečnou přesnost v malých průtocích. Tuto skutečnost se rozhodl změnit výrobce MCQ Instruments se svými směšovači plynů určenými právě pro tyto aplikace. Směšovače vyrábí v několika řadách, které se od sebe liší rozsahem průtoků a svým ovládáním.

Jak přístroje fungují a pro jaké plyny se hodí?

Směšovače výrobce MCQ Instruments fungují na přesném a ověřeném základu hmotnostního průtokoměru. Plyn protékající daným kanálem ochlazuje žhavený drátek a přístroj na základě operátorem zadaného typu plynu (nebo K faktoru) vypočítá průtok plynu kanálem a dále reguluje průtoky tak, aby bylo dosaženo žádaného složení směsi. Standardně lze tyto směšovače použít pro vzduch, kyslík, dusík, oxid uhličitý, methan, helium (některé modely i vodík). Další nekorozivní plyny jsou na dotaz.

Co mohou tyto směšovače nabídnout?

- Snadné ovládání – uživatel si v počítači, nebo na dotykovém displeji ve velmi intuitivním prostředí nastaví, jaký plyn má na kterém kanálu, dále nastaví, jaký má být výsledný poměr plynů, a je hotovo. Navíc lze přístroj nastavit i program, kterým bude jednotlivé poměry plynů měnit v čase.
- Ti z vás, kteří se s touto problematikou již setkali, jistě ocení, že se nemusí programovat každý kanál zvlášť, a navíc přepočítávat průtok ručně přes tzv. K faktor, který má každý plyn jiný.
- Vysoká přesnost – pro to, abyste dosáhli maximální přesnosti, výrobce přístroje na žádost zákazníka zkalibruje na určené plyny. Kalibrovat lze navíc až na 80 bodů.
- Široká škálovatelnost – většina výrobců podobných přístrojů se zaměřuje především na vysoké průtoky



užívané v průmyslu a ty se v laboratorních měřících nevyužijí. Přístroje od MCQ Instruments pokrývají široký rozsah průtoků jedním kanálem od jednotek mililitrů až po patnáct litrů za minutu.

- Vysoká rychlost odezvy – přístroje umí reagovat na změnu nastavených parametrů již od 100 ms (v závislosti na modelu).
- Malé rozměry – ve většině laboratoří se hodí každý ušetřený centimetr. Určitě vás potěší, že celá technologie je umístěna na jednom místě v těle kompaktního přístroje. Ušetrí vám tak nejen čas, ale i místo.



Jaké jsou aplikace?

Použití směšovače naleznou především v laboratorních zaměřených na syntézy ve specifických atmosférách, Life Science a medicína (inkubace, vliv hypoxie apod.), potravinářství (balení v ochranných atmosférách), výzkum materiálů pro ukládání plynů, senzory nebo kalibrace.

Kde už přístroje používají?

Tyto přístroje se již používají na spoustě renomovaných pracovišť po celém světě – ze soukromého sektoru jsou to například Roche, Novartis a z akademického například Caltech, Yale, Stanford University, Berkeley, případně v Česku Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně.

A kde si přístroj můžete pořídit?

V e-shopu www.p-lab.cz najdete několik typů směšovačů řady GB s různými rozsahy průtoků a ovládáním. Pokud si budete přát vlastní sestavu, napište nám na info@p-lab.cz. Na základě požadovaného počtu vstupních kanálů, kalibrací na konkrétní plyny a způsobu napojení na stávající aparatury sestavíme přístroj na míru.

Ondřej Vik
Produktový manager
P-LAB | www.p-lab.cz

OBSAH

| | |
|--|-----|
| ÚVODNÍK | |
| 100 let od první publikace o polarografii v Chemických listech | 333 |
| J. Barek | |
| REFERÁTY | |
| Možnosti inhibice mikrobiálního biofilmu | 335 |
| Z. Kodeš, A. Čejková a I. Kolouchová | |
| Metody slinování za asistence elektrického pole/proudu | 343 |
| T. Wangle, M. Vilémová a V. Tyrpekl | |
| Marcel Proust: Hledání chemie v jeho díle. Autor a jeho velký chemický román | 348 |
| K. Nesměrák a R. Chalupa | |
| Enzymové biosenzory pro stanovení pesticidů v životním prostředí | 358 |
| O. Keresteš a M. Pohanka | |
| Fytosteroly a steryl glykozidy v post-fermentačním kukuričném oleji a ich vplyv na kvalitu biopalív | 365 |
| M. Holíčková, P. Ondřejíčková, V. Kafková, a V. Cyprichová | |
| Návrh struktury, syntéza a biologická aktivita nových karbamátových inhibitorů cholinesteráz | 372 |
| L. Ungvarská Maľučká a J. Csöllei | |
| PŮVODNÍ A METODICKÉ PRÁCE | |
| Hodnocení stability PVC knižních desek | 381 |
| R. Kalousková, L. Malinová, V. Benešová a J. Brožek | |

CONTENTS

| | |
|---|-----|
| EDITORIAL | |
| 100 Years since the First Publication on Polarography in Chemické Listy | 333 |
| J. Barek | |
| REVIEW ARTICLES | |
| Possibilities of Microbial Biofilm Inhibition | 335 |
| Z. Kodeš, A. Čejková, and I. Kolouchová | |
| Methods of Electrical Field/Current Assisted Sintering | 343 |
| T. Wangle, M. Vilémová, and V. Tyrpekl | |
| Marcel Proust: In Search of Chemistry in His Work. The Author and His Great Chemical Novel | 348 |
| K. Nesměrák and R. Chalupa | |
| Enzymatic Biosensors for the Environmental Analysis of Pesticides | 358 |
| O. Keresteš and M. Pohanka | |
| Steryl Glycosides in Postfermentation Corn Oil and Its Effect on the Biofuel Production | 365 |
| M. Holíčková, P. Ondřejíčková, V. Kafková, and V. Cyprichová | |
| Design, Synthesis and Biological Activity of New Carbamate Cholinesterase Inhibitors | 372 |
| L. Ungvarská Maľučká and J. Csöllei | |
| ORIGINAL AND METHODOLOGICAL PAPERS | |
| Evaluation of the Stability of PVC Book Covers | 381 |
| R. Kalousková, L. Malinová, V. Benešová, and J. Brožek | |

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/>

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 116 (2022), čís./no. 6 • 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 • REDAKTORI/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 REDAKTORI/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA) • TECHNICKÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: R. Rápková • 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 26.5.2022.



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

