

Motto: Člověk může být alergický na všechno, kromě čisté pramenité vody

Alergie na potraviny

Seriozní sociologické průzkumy v Evropě ukazují, že 20 % dospělé populace věří, že trpí alergií na potraviny. Naštěstí lékařská vyšetření dokládají, že velká většina z takto „věřících“, trpících chorobou „jsem alergický na mrkev“, si prostě nechce přiznat, že mrkev neradi jedí. Skutečné problémy s odmítavými reakcemi na potraviny má asi 1-2 % obyvatel. Mohlo by se na první pohled zdát, že jde o okrajovou záležitost. V rámci Evropy se však jedná nejen o miliony dospělých pacientů, ale bohužel o dvojnásobný počet dětí. Zdravotní problémy po konzumaci hygienicky zcela nezávadných potravin se vyskytují podle literárních údajů stále častěji a počet postižených se neustále zvyšuje. Jedná se tedy o závažný problém.

Odmítavé reakce některých lidí na určité druhy potravin jsou stále předmětem protichůdných názorů. Přestože se touto oblastí zabývá rozsáhlý výzkum, nejsou ani v odborné veřejnosti sjednoceny pojmy popisující reakce organismu na některé potraviny. Pokud vyloučíme případy, ke kterým by v žádném případě nemělo docházet, kdy zdravotní problémy jsou vyvolány požitím potravy toxické nebo mikrobiologicky závadné, setkáváme se nejčastěji při rozlišování odmítavých reakcí na potraviny s pojmy potravinová alergie a potravinová intolerance. Tyto dva různé termíny se někdy zaměňují a mylně považují za synonyma. Alergická i intolerantní reakce mohou totiž mít stejné nebo velmi podobné příznaky.

Alergeny jsou většinou glykoproteiny, které mají molekulovou hmotnost mezi 5 až 70 kDa a jsou dobře rozpustné ve vodě. Většina alergenů vyniká odolností ke kyselému prostředí žaludku (pH 1–2), ke štěpení trávicími enzymy (pepsin, trypsin, chymotrypsin), a také k tepelnému zásahu. To je příčinou obtíží při pokusech snížit alergenicitu potravin nebo ji dokonce odstranit. Alergiemi jsou postiženi zejména děti, zatímco u dospělých se obvykle stárnutím alergická odpověď oslabuje. Dodnes není zcela jasné, proč některé proteiny působí alergie a jiné ne, ale nepochybně významnou roli hraje obranná bariéra střevní stěny. Alergická reakce způsobí aktivaci imunitního systému organismu. Jde o obrannou reakci, kdy organismus produkuje histamin a další signální látky, a spouští tak alergické příznaky, které mohou ohrozit i život organismu. Symptomy alergie se většinou objevují prakticky okamžitě po požití potravin. Snad největší obtíž v boji proti alergiím představuje okolnost, že i nepatrné množství alergenu může spustit alergickou reakci. Další komplikaci přináší skutečnost, že komunikace v živých systémech jsou založeny na tvorbě nekovalentních vazeb mezi proteiny podle známého principu Emila Fischera „zámek a klíč“. To znamená, že prostorově podobné strukturní motivy různých proteinů mohou vyvolávat alergickou reakci.

Alergenními proteiny je např. většina proteinů mléka,

vajec, luštěnin, cereálií, arašídů, ořechů, ryb a koryšů. Především alergeny arašídů a různých ořechů mohou působit vážné alergické projevy, tím spíše, že bývají „skryté“ v potravinách, kde bychom je neočekávali. Kromě jídla na nás čekají další alergologická nebezpečí. Proteiny rostlinných pylů, např. brízy nebo lísky, vyvolávají stejnou alergickou odpověď organismu jako některé proteiny zeleniny, ovoce nebo ořechů. Těmto jevům se říká zkřížená alergie a jen ve střední Evropě jí trpí 50 % pylových alergiků. Velmi nebezpečné jsou také alergeny, přenášené domácími zvířaty. Jejich kožíšek je velmi dobrým přenašečem alergenů, které jsou obsaženy v jejich slinách, moči nebo kožních šupinách. Tyto alergeny, podobně jako u roztočů, se adsorbují na malé částičky jemného prašného aerosolu, který pak vdechujeme. Nejagresivněji působí alergeny koček, prudké reakce vyvolávají i alergeny malých hlodavců. Konečně v záloze číhá bodavý hmyz, který může alergeny vnést do organismu a způsobit vážnou alergickou reakci.

Na rozdíl od pravých alergií na různé potraviny existují odmítavé reakce, které nezahrnují reakce imunitního systému. Tento typ odmítavých reakcí je způsobován nízkomolekulárními látkami přirozeně se vyskytujícími v potravinách (např. laktosa, histamin) nebo různými potravinovými aditivami a nazýváme je nesnášenlivost (intolerance). Podobně jako u pravých alergií postihuje pouze omezený počet jedinců v populaci. Nasnášenlivost může vznikat různými mechanismy. Patří sem geneticky podmíněný nedostatek nebo nepřítomnost některého enzymu, schopného příslušnou sloučeninu přeměňovat. Příkladem je intolerance k laktose způsobovaná nepřítomností střevní β -galaktosidasy (EC 3.2.1.23) a charakterizovaná neschopností štěpit (strávit) laktosu. Jedinci takto postižení mohou konzumovat fermentované mléčné výrobky (jogurt, některé sýry), kde laktosu rozštěpily kulturní mikroorganismy. Nadměrná citlivost některých lidí na potraviny obsahující potravinová aditiva (např. glutamát, oxid siřičitý, umělé sladidlo aspartam, aj.) probíhá dosud neznámým mechanismem, při kterém se poruší membrány žírných buněk, spontánně se uvolní histamin a nastává tzv. anafylaktoidní reakce. Nejznámějším příkladem je tzv. „alergie“ na jahody.

Závěr tedy bohužel nemůže být příliš optimistický pro ty z nás, kteří uvedenými odmítavými reakcemi na potraviny trpíme. Omezení či dokonce naprosté vymýcení alergických reakcí bude vyžadovat velké úsilí nejen potravinářů a biotechnologů, ale i biochemiků, fyziologů a lékařů. V současné době se již na trhu objevují hypoalergenní potraviny a výrobky z nich připravené. Takové produkty zvyšují kvalitu života postižené části populace.

Pavel Rauch.

INHIBITORY PROTEAS V HLÍZE BRAMBORU

LENKA HANUSOVÁ a VLADISLAV ČURN

Biotechnologické centrum, Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Studentská 13, 370 05 České Budějovice
len.hanusova@seznam.cz

Došlo 20.6.06, přepracováno 9.11.06, přijato 16.11.06.

Klíčová slova: inhibitory proteas, brambor, obrana proti hmyzu, protirakovinné účinky

Obsah

1. Úvod
2. Klasifikace inhibitorů proteas
3. Role inhibitorů proteas
 - 3.1. Úloha inhibitorů proteas v rostlinách
 - 3.1.1. Inhibitory proteas jako součást obranného mechanismu rostlin
 - 3.1.2. Inhibitory proteas jako zásobní proteiny
 - 3.1.3. Inhibitory proteas a jejich úloha při kontrole endogenních proteas
 - 3.2. Využití inhibitorů proteas v lékařství
 - 3.2.1. Využití protirakovinných účinků inhibitorů proteas
 - 3.2.2. Inhibitory proteas v léčbě dermatitid
 - 3.2.3. Inhibitory proteas a léčba obezity
4. Závěr

1. Úvod

V rozvojových zemích, kde je nízká spotřeba proteinů živočišného původu, tvoří rostliny hlavní zdroj proteinů a uhlovodíků pro výživu lidí i v krmení hospodářských zvířat. Ačkoliv celosvětově hlavními potravinami zůstávají semena (cereálie a leguminózy), využívá se rovněž 5 hlavních hlíznatých rostlin. Brambor (*Solanum tuberosum* L.) je pak nejdůležitější hlíznatou plodinou. Roste i v mírných klimatických podmínkách a je tedy jedinou hlíznatou plodinou rostoucí mimo tropy. Z hlediska produkce se jedná o nejdůležitější hlíznatou plodinu. Zaujímá 45 % z celkové světové produkce všech hlíznatých plodin. Rozšíření bramboru z centra jeho původu (And) do ostatních částí světa a historické souvislosti tohoto rozšíření jsou velmi dobře zdokumentovány¹.

Hlízy představují jedinou využitelnou část celé rostliny bramboru. Morfologicky se jedná o ztlustlé stolony, přestože jsou uloženy převážně pod povrchem země. Celkový obsah vody v hlíze dosahuje průměrně 75 % z celko-

vé hmotnosti hlízy. Zbýlých 25 % tvoří sušina, obsahující řadu rozličných látek. Nejdůležitějšími látkami v sušině jsou škrob, polysacharidy a proteiny. Podíl škrobu v hlíze se pohybuje v rozmezí 13 až 24 % v závislosti na odrůdě/genotypu. Polysacharidy (vyjma škrobu) pak představují 0,5 % celkové hmotnosti hlízy². Hlízy bramboru obsahují přibližně 1,5 % proteinu ze své čerstvé váhy^{3,4}.

Inhibitory proteas (PI's) představují jednu ze tří skupin rozpustného proteinu v hlíze bramboru, společně s patatinem a skupinou ostatních proteinů⁴. Ačkoliv bylo popsáno, že PI's tvoří kolem 30 % celkového proteinu⁵, přesný poměr zastoupení jednotlivých skupin proteinů zůstává neobjasněn. V rostlinách obecně se PI's vyskytují často v překvapivě vysokých koncentracích⁶.

První skupinu rozpustného proteinu hlízy bramboru představuje patatin, jehož triviální jméno bylo vytvořeno Racusenem a Footem⁷. Očekávaný podíl patatinu na celkovém rozpustném proteinu hlízy bramboru se pohybuje v rozmezí 20 a 40 % (cit.^{5,8}). Paiva a spol.⁸ demonstroval existenci lineární příbuznosti mezi množstvím patatinu, vyjádřeného jako procentický podíl z celkového rozpustného proteinu, a logaritmem hmotnosti hlízy. Patatin je dimer (homodimer), tvořící 2 identické podjednotky s molekulovou hmotností 40–43 kDa (cit.⁴). Celý protein (dimer) má molekulovou hmotnost okolo 80 kDa (cit.⁹). Patatin je glykoprotein, který může být glykosylován až 2 molekulami sacharidů. Patatin vykazuje celou řadu funkcí a enzymových aktivit. Jednou z nich je lipid acylhydrolasová (LAH) aktivita pro deacylaci lipidů a tvorbu esterů vosků¹⁰. To naznačuje možné zapojení patatinu v mechanismu obrany rostlin proti patogenům a tuto teorii následně podpořily i zkoušky s biologickým materiálem. Využití patatinu jako umělého krmiva pro hmyz mělo za následek potlačení růstu larev rodu *Diabrotica*¹¹. Po ošetření patatinu di-isopropylfluorofosfátem došlo k inhibici jeho fosfolipasové, galaktolipasové a acylhydrolasové aktivity a rovněž byl potlačen jeho negativní vliv na růst larev. Srovnání enzymových a inhibičních vlastností patatinových frakcí z odlišných odrůd bramboru ukázalo, že galaktolipasová aktivita koreluje s inhibicí růstu, na rozdíl od fosfolipasové a acylhydrolasové. Na základě tohoto srovnání se dospělo k závěru, že patatin může působit svým vlivem na metabolismus lipidů jako obrana proti hmyzím škůdcům¹². Další náznak možné role patatinu v obranném mechanismu rostlin pochází ze studií provedených na tabákových listech, infikovaných virem mozaiky tabáku. Infekce silně podpořila projev tří genů kódujících proteiny podobné patatinu, přičemž jeden z těchto proteinů vykazuje fosfolipasovou A2 aktivitu (PLA2). Zvýšení PLA2 v infikovaných listech, který předchází nahromadění obranných signálů odvozených od mastných kyselin, naznačuje, že PLA2 spouští syntézu těchto signálů uvolňováním mastných kyselin z membránových lipidů¹³. Patati-

nu podobný protein s galaktolipasovou aktivitou byl nalezen rovněž v listech viny (*Vigna unguiculata*), které byly předtím podrobeny stresu ze sucha¹⁴. Na základě tohoto zjištění lze usuzovat na možnou širší roli patatinu v odpovědi rostliny na stres^{12,14}.

Skupina tzv. ostatních proteinů přítomných v hlíze bramboru (vyjma PI's) zahrnuje proteiny s celkovou molekulovou hmotností vyšší než 40 kDa. Z hlediska důležitosti zaujímají první místo mezi proteiny této skupiny lektiny. Důvodem je jejich zapojení do obranného mechanismu rostlin, kde indukují (navozují) shlukování (aglutinaci) buněk. Některé z lektinů jsou v případě požití toxické i pro savce, neboť procházejí gastrointestinálním ústrojím takřka nezměněny a dokáží přivodit řadu odlišných poruch trávicího traktu¹⁵. Dalšími příklady proteinů této skupiny jsou polyfenoloxidas, enzymy podílející se na produkci škrobu a isoenzymy fosforylasy⁴.

Třetí, z pohledu našeho výzkumu nejdůležitější, skupinu představují inhibitory proteas (PI's). Tvoří kolem 30 % z celkového rozpustného proteinu hlízy bramboru⁵. U odrůdy brambor Elkana byl podíl PI's z celkového množství proteinu ve štávě z hlízy bramboru stanoven na 50 % (cit.⁴). Ve srovnání s patatinem jsou PI's mnohem více heterogenní skupinou proteinů. Liší se svou molekulovou hmotností, aminokyselinovým složením, pI a inhibiční aktivitou⁴. Základní úlohou PI's je kontrola proteolýzy. Proteolýza je klíčový proces všech žijících organismů, a proto musí být přísně kontrolována. Nepřekvapí tedy existence přirozeně se vyskytujících PI's různého původu¹⁶.

2. Klasifikace inhibitorů proteas

Přirozeně se vyskytující PI's jsou primárně klasifikovány na základě typu, popř. typů, enzymů, které inhibují¹⁷. Proteasy samotné jsou většinou klasifikovány podle aminokyselinového zbytku ve svém aktivním místě.

Proteasy dělíme do 4 tříd: 1) serinové proteasy (se serinem či histidinem v aktivním místě), 2) cysteinové

proteasy (s cysteinem v aktivním místě), 3) aspartátové proteasy (s aspartátovou skupinou v aktivním místě) a 4) metalloproteasy (s kovovým iontem (Zn^{2+} , Mn^{2+} apod.) v aktivním místě)⁴. Dělení inhibitorů proteas (PI's) do tříd vychází z předchozí klasifikace proteas, např. inhibitory serinových proteas.

V některých případech je dělení PI's do skupin dále komplikováno strukturou aktivního místa nebo homologii sekvencí. V prvním případě se jedná o tzv. double-headed PI's, které mají ve své struktuře 2 odlišná aktivní místa, a proto mohou inhibovat 2 odlišné enzymy. Tento jev se však při klasifikaci PI's nebere v úvahu. PI's ze stejné skupiny mohou být tedy single- i double-headed. Homologie sekvence se naopak jako kritérium při rozdělování PI's do skupin používá. Příkladem mohou být inhibitory Kunitzova typu.

PI's lze dále dělit na základě jejich molekulové hmotnosti, stavbě proteinu (monomer či multimer), hodnotě isoelektrického bodu a počtu disulfidových můstků v molekule. Tato kritéria určují, do které skupiny mohou být jednotlivé PI's zařazeny⁴. Podle těchto kritérií lze tedy PI's rozdělit do 7 následujících skupin: inhibitor I z bramboru (PI-1), inhibitor II z bramboru (PI-2), inhibitor karboxypeptidasy z bramboru (PCI), inhibitor aspartátových proteas z bramboru (PAPI), inhibitor cysteinových proteas z bramboru (PCPI), inhibitor proteas Kunitzova typu z bramboru (PKPI) a ostatní inhibitory serinových proteas (OSPI). Nejvíce zastoupenými skupinami inhibitorů jsou PI-2 a PCPI, které představují 22 a 12 % ze všech proteinů v hlíze bramboru⁴. Vlastnosti všech výše uvedených rodin PI's jsou popsány v tabulce I.

Výše zmíněné rozdělení PI's není příliš hojně využíváno. Doposud se PI's z hlízy bramboru rozdělovaly spíše do 3 odlišných tříd a skupin¹⁸. První třídu tvoří bramborový inhibitor I (PI-1), což je inhibitor serinových proteas. Tento protein je pentamer, složený z isoinhibitorových promotorových podjednotek. Jeho celková molekulová hmotnost je 40 kDa (cit.¹⁹). Představitelem druhé třídy je bramborový inhibitor II (PI-2). Tato skupina je tvořena dimery inhibitorů serinových proteas. Obě podjednotky

Tabulka I
Vlastnosti rodin PI's, přítomných v hlíze bramboru

Skupina	Počet podjednotek	MW [kDa]	pI	Inhibované enzymy
PI-1	5	35–40	5,1–7,8	<u>chymotrypsin</u> , trypsin
PI-2	2	20,5	5,5–5,9	<u>trypsin</u> , chymotrypsin
PCPI	1	20,1–22,8	5,8–9,0	<u>papain</u> , trypsin, chymotrypsin
PAPI	1	19,9	8,2	trypsin, chymotrypsin, <u>cathepsinD</u>
PKPI	1	20,2	8,0–9,0	<u>trypsin</u> , chymotrypsin
PCI	1	4,3	–	<u>karboxypeptidasa A</u>
Ostatní	1–2	21–24	7,5–8,8	trypsin, chymotrypsin, elastasa

Pozn.: Hlavní inhibovaný enzym je podtržen

Tabulka II
Rozdělení PI's do skupin podle hlavní a specifické klasifikace PI's

Skupina	MW [kDa]	Podjednotka	Cys / sub.	Inhibované enzymy	Třída a skupina v tzv. potato klasifikaci PI's
<i>Třída inhibitorů serinových proteas</i>					
Inhibitory Kunitzova typu	21–23	1	4	T,C	III,1
Inhibitor I z bramboru	40	4–5	2	T,C,S	I
Inhibitor II z bramboru	20–21	2	14	T,C,E	II
<i>Třída inhibitorů cysteinových proteas</i>					
Multicystatiny	85	1	0	P	
Inhibitory Kunitzova typu	20–21	1	4	T,P,CB,CL	III,2
<i>Třída inhibitorů asparágových proteas</i>					
Inhibitory Kunitzova typu	20–22	1	4	CD	III,3
<i>Třída inhibitorů metalloproteas</i>					
Inhibitor karboxypeptidasy bramboru	4	1	6	CaP	III,4

Pozn.: Inhibované enzymy: T – trypsin, C – chymotrypsin, S – subtilisin, E – elastasa, P – papain, CB – kathepsin B, CL – pathepsin L, CD – pathepsin D, CaP – karboxypeptidasa

jsou spojeny disulfidovými můstky na *N*-konci. Protein se chová jako jednodoménový protein²⁰.

Proteiny o molekulové hmotnosti 20 až 22 kDa jsou členy třetí třídy. Tato třída se dále dělí do 4 odlišných tříd: 1) inhibitory proteas Kunitzova typu²¹, 2) inhibitory cysteinových proteas²², 3) inhibitory aspartátových proteas²³ a 4) inhibitor karboxypeptidasy²⁴. Všechny PI's zařazené do této třídy jsou monomery. Liší se typem proteasy, kterou inhibují, a počtem cysteinových zbytků na podjednotku. Přehled všech PI's přítomných v hlíze bramboru je uveden v tabulce II. PI's jsou zde rozděleny podle hlavní klasifikace PI's a rovněž podle klasifikace specifické pro PI's z hlízy bramboru.

3. Role inhibitorů proteas

PI's mohou zaujímat v rostlinách celou řadu odlišných rolí. Mohou působit jako zásobní proteiny, regulátory endogenní proteolytické aktivity¹⁷ i jako součást mnoha vývojových procesů včetně programované buněčné smrti²⁵. PI's tvoří důležitou složku obranného mechanismu rostlin, spojeného s rezistencí rostlin vůči hmyzu a patogenům. Vykazují rovněž mnoho dalších funkcí mimo rostlinu. U řady PI's je studována možnost jejich využití při léčbě rakoviny, dermatitid, obezity či AIDS⁴.

3.1. Úloha inhibitorů proteas v rostlinách

3.1.1. Inhibitory proteas jako součást obranného mechanismu rostlin

Nejdůležitější oblast činnosti PI's v rostlině předsta-

vuje jejich zapojení do obranného mechanismu rostliny. V odpovědi na mechanické poranění nebo napadení patogenem či škůdcem dochází u rostlin k nárůstu zastoupení obsahu PI. Tento nárůst může být pozorován jednak v okolí poranění (lokální) a také v celé rostlině (systemický). Z toho lze odvodit možné zapojení PI v obranném mechanismu²⁶.

První zmínka o možné roli PI's v obraně rostliny pochází z roku 1947, kdy Mickel a Standish zjistili, že larvy rozličného hmyzu nejsou schopny normálního vývoje, pokud se nachází na produktech ze sóji²⁷. Lipke a spol.²⁸ dokázali, že inhibitor trypsinu přítomný v sóje je toxický pro larvy *Tribolium confusum*. Kromě těchto raných studií byla uvedena celá řada příkladů aktivity inhibitorů proteas proti určitým hmyzím druhům. Většinu PI's zapojených do obranných mechanismů rostlin tvoří inhibitory serinových proteas. Méně častými jsou inhibitory cysteinových proteas¹⁷. Existuje pouze málo informací o působení zbývajících dvou tříd inhibitorů proteas (inhibitory aspartátových proteas a inhibitory metalloproteas) v obranných mechanismech rostlin²⁹.

V souvislosti s PI's z hlízy bramboru je nutné zmínit práci Johnsona a spol.³⁰, kteří prokázali, že larvy *Manduca sexta* krmené listy transgenního tabáku exprimující transgen pro PI-2, důležitý inhibitor chymotrypsinu a trypsinu, měly v porovnání s larvami téhož druhu krmenými netransgenním materiálem značně retardovaný růst. Podobné pokusy s listy transgenního tabáku s transgenem pro inhibitor 1 z rajčete, který patří do skupiny PI-1 inhibitorů a je důležitým inhibitorem chymotrypsinu, prokázaly, že tento inhibitor má pouze malý vliv na růst larev. Z těchto výsledků lze odvodit, že největší vliv na růst larev *Manduca sexta* má inhibiční aktivita vůči trypsinu. Podobně

výsledky byly pozorovány při pokusech s larvami druhu *Teleogryllus commodus* a stravou obsahující PI-2 (cit.⁴).

Druhou důležitou třídu PI's představují inhibitory cysteinových proteas. Mezi členy této třídy se řadí rovněž inhibitor cysteinových proteas Kunitzova typu z bramboru (PKPI). Bylo zjištěno, že hlavní proteasou v trávicím traktu *Diabrotica undecimpunctata howardi* je cysteinová proteasa. Začlenění PKPI do stravy larev tohoto druhu má za následek nárůst mortality a v podstatě rovněž potlačení růstu. To je důkazem, že PKPI může být součástí obranného mechanismu rostliny³¹.

3.1.2. Inhibitory proteas jako zásobní proteiny

PI's jsou přítomné v hlízách bramboru v relativně vysokém množství i bez předchozí indukce poraněním či patogenem a tato jejich přítomnost nasvědčuje tomu, že PI's mohou sloužit i jako zásobní proteiny. Tuto možnou roli naznačil poprvé Pusztai³². Dokázal časovou shodu mezi obdobím maximální proteolýzy a obdobím maximálního obsahu inhibitoru proteas v průběhu klíčení fazolu šarlatového.

Derbyshire a spol.³³ stanovili jako hranici pro zásobní protein obsah proteinu 5 % z celkového množství proteinu. Jelikož PI's tvoří 30 % všech rozpustných proteinů v hlíze bramboru, mohly by být považovány za zásobní proteiny. Problémem je však fakt, že PI's tvoří homologní skupinu, ale patří do rozdílných tříd a skupin. Další problém představuje kolísání jejich koncentrace v průběhu zrání. Proto PI's nenaplňují zcela definici zásobního proteinu.

PI's mohou sloužit jako zdroj síry, nezbytné pro klíčení semen. Obecně jsou PI's velmi bohaté na zbytky cysteinu, jak je zřejmé z tab. II. To však platí především pro PI's s nízkou molekulovou hmotností (3–13 kDa)³⁴.

3.1.3. Inhibitory proteas a jejich úloha při kontrole endogenních proteas

Shain a Mayer³⁵ studovali interakce mezi proteasami podobnými trypsinu a PI's v semenech salátu. Ve svých studiích dokázali, že PI's mohou být aktivní vůči endogenním proteasám. Dalším příkladem regulace aktivity endogenních proteas je exprese inhibitorů cysteinových proteas v kukuřici, kde se vyskytují paralelně s hromaděním glutelinu. To je známkou zapojení PI's do ochrany glutelinu proti hydrolýze³⁶. Dále byla popsána schopnost inhibitorů Bowmanova-Birkova a Kunitzova typu ze sóji inhibovat purifikovanou serinovou proteasu rovněž ze sóji³⁷. Inhibitory cysteinových proteas, které jsou přítomné v semenech a hlízách v menších množstvích než inhibitory serinových proteas, se účastní regulace fyziologicko-metabolických procesů³⁸.

3.2. Využití inhibitorů proteas v lékařství

PI's jsou zkoumány i z hlediska využití v lékařském výzkumu. Ačkoliv byly dlouho považovány pouze za anti-nutriční faktory, dostávají se v posledních letech do popředí zájmu zejména díky svým možným protirakovinným

a specifickým dietetickým vlastnostem.

3.2.1. Využití protirakovinných účinků inhibitorů proteas

PI's jsou uznávány jako skupina protirakovinných činidel³⁹. Tuto schopnost lze pozorovat u PI's pocházejících z různých skupin. Jako neúčinnější se jeví PI's se schopností inhibovat proteasy podobné chymotrypsinu, ke kterým patří v současnosti nejstudovanější inhibitor Bowmanova-Birkova typu ze sóji (BBI). PI's z hlízy bramboru v této oblasti nezůstávají pozadu. Obzvláště perspektivními se zdají být PI-1 a PI-2. Současně narůstá zájem o ostatní skupiny PI's z hlízy bramboru, zejména o inhibitory aktivní vůči cysteinovým proteasám a karboxypeptidase⁴⁰.

K nejrozšířenějším formám rakoviny patří karcinomy kůže. V souvislosti s touto formou rakoviny byly studovány účinky PI-1, PI-2 a PCI.

Jednou z příčin nárůstu výskytu karcinomů lidské kůže je sluneční UV záření. Za aktivaci promotoru tumoru v savčích buňkách je zodpovědná aktivace aktivátorového proteinu (AP-1), což je transkripční faktor. Pokusy s PI-1 a PI-2, aplikované na myši epidermální buňky, prokázaly, že tyto PI's jsou schopny blokovat UV zářením indukovanou aktivaci AP-1. Tato inhibice je navíc specifická pouze pro přenos signálu pro aktivaci AP-1, který byl indukován UV zářením⁴¹.

Jako značně perspektivní v léčbě rakoviny se projevuje rovněž inhibitor karboxypeptidasy z hlízy bramboru (PCI), který je jediným přirozeným antagonistou lidského epidermálního růstového faktoru (EGF). EGF spolu se svým receptorem (EGFR) tvoří součást některých aspektů vývoje nádoru, včetně růstu nádorových buněk, vaskularizace, invazivnosti a tvorby metastáz. PCI soupeří s EGF o vazebné místo na EGFR. V případě, že dojde k navázání PCI na EGFR, je inhibována jeho aktivace a následná proliferace buněk, kterou EGFR indukuje. Příčinou tohoto jevu je pravděpodobně disulfidická smyčka, tzv. T-knot, která se kromě PCI vyskytuje rovněž v mnoha růstových faktorech včetně EGF (cit.⁴).

Další možnost vzniku rakoviny je spojena s funkcí fagocytujících buněk. Ty jsou stimulovány invazí bakterií a následně vytvářejí aktivní kyslíkové druhy. Weitzman a spol.⁴² popsali podíl těchto aktivních druhů na vzniku zánětlivých onemocnění, nekrotizace okolních tkání, mutagenitě a karcinogenitě. Následně bylo dokázáno, že inhibitory chymotrypsinu, obzvláště PI-1, jsou schopny inhibovat tvorbu aktivních kyslíkových druhů v průběhu oxidačního spalování ve stimulovaných lidských leukocytech s polymorfními jádry³⁸.

3.2.2. Inhibitory proteas v léčbě dermatitid

Další možné využití PI's v medicíně představuje jejich zapojení do léčby kožních onemocnění (dermatitid). Zde se PI's uplatňují především v léčbě perianálních dermatitid. Ty vznikají často jako následek průjemových nebo jiných gastrointestinálních onemocnění či chirurgického zásahu v břišní krajině, kdy nedochází k dostatečné redukci a naředění proteas, pocházejících z potravy a ze štáv

z žaludku, slinivky a tlustého střeva. Přebytky proteasy jsou následně vylučovány exkrementy a navozují vznik dermatitid v okolí konečníku. Pro odstranění této příčiny je potřeba získat zdroj, který zahrnuje PI's schopné inhibovat všechny typy proteas. Tímto zdrojem by mohly být hlízy bramboru, které uvedený požadavek splňují⁴³.

3.2.3. Inhibitory proteas a léčba obezity

Klíčovou roli v mechanismu nasycení hraje cholecystokinin (CCK), peptid složený z 33 aminokyselin, který stimuluje kontrakce žlučníku a vylučování trypsinogenu ze slinivky. Trypsinogen se ve dvanáctníku přeměňuje na aktivní trypsin, který mechanismem negativního zpětného kroku ovlivňuje uvolňování CCK. Přesný mechanismus tohoto ovlivňování nebyl dosud v lidském organismu dostatečně prozkoumán⁴⁴. Vysoká hladina CCK způsobuje redukci příjmu potravy. Hlavním efektem podávání CCK před jídlem je dřívější nástup pocitu sytosti a lidé proto přestanou dříve jíst⁴⁵. Nejprve bylo tedy vyzkoušeno intravenózní podávání CCK obézním lidem. Tento způsob měl ovšem řadu negativních vedlejších účinků, jako např. nauseu⁴⁶. Owyang a spol.⁴⁴ zjistili, že inhibitory serinových proteas jsou schopny udržovat vyšší hladinu CCK v organismu. Použití PI-2 jako doplňku stravy způsobuje tedy nárůst hladiny CCK a tím i redukci příjmu potravy. Současně zmizely zmiňované negativní vedlejší příznaky⁴⁷.

4. Závěr

Inhibitory proteas (PI's) jsou nesmírně širokou skupinou proteinů, vyskytující se u rostlin, živočichů i mikroorganismů. Z hlediska klasifikace představují značně heterogenní skupinu. Pravidla klasifikace navíc zůstávají poněkud neurčitá. Působnost PI's zaujímá velmi široký okruh od zásobních proteinů k složkám obranného mechanismu rostlin. PI's z hlízy bramboru nejsou výjimkou. Dva nejčastěji zmiňované PI's (PI-1 a PI-2) jsou studovány s ohledem na možnost jejich zapojení do léčby celé řady chorob a rovněž v souvislosti se zapojením v obranném mechanismu rostlin, obzvláště v obraně vůči hmyzím škůdcům. Proto je nezbytné věnovat PI's v budoucnu značnou pozornost.

LITERATURA

- Messer E., v knize: *The Cambridge World History of Food* (Tipple K. F., Ornelas K. C., ed.), kap. Potatoes white. Cambridge University Press, Cambridge 2000.
- Vokál B., Čepel J., Hausvater E., Rasocha V.: *Pěstujeme brambory*. Grada Publishing, Praha 2003.
- Lisinska G., Leszcynski W.: *Potato Science and Technology*. Elsevier Applied Science, London 1989.
- Pouvreau L., Gruppen H., Piersma S. R., van den Broek L. A. M., van Koeningsveld G. A., Vpraven A. G. J.: *J. Agric. Food. Chem.* 49, 2864 (2001).
- Melville J. C., Ryan C. A.: *J. Biol. Chem.* 247, 3443 (1972).
- Murdock L. L., Shade R. E.: *J. Agric. Food Chem.* 50, 6605 (2002).
- Racusen D., Foote M.: *J. Food Biochem.* 1, 13 (1980).
- Paiva E., Lister R. M., Park W. P.: *Plant Physiol.* 71, 161 (1983).
- Racusen D., Weller D. L.: *Food Biochem.* 8, 103 (1984).
- Anderson C., Pinsirodom P., Parkin K. L.: *J. Food Biochem.* 26, 63 (2002).
- Strickland J. A., Orr G. L., Walsh T. A.: *Plant Physiol.* 109, 667 (1995).
- Shewry P. R.: *Annals of Botany* 91, 755 (2003).
- Dhont S., Geoffroy P., Stelmach B. A., Legrand M., Heitz T.: *Plant J.* 23, 431 (2000).
- Matos A. R., d'Arcy-Lameta A., FranVa M., Zuily-Fodil Y., Pham-Thi A. T.: *Biochem. Soc. Trans.* 28, 779 (2000).
- Carlini C. R., Grossi-de Sá M. F.: *Toxicon* 40, 1515 (2002).
- Hraška M., Rakouský S., Čurn V.: *Chem. Listy* 100, 501 (2006).
- Ryan C. A.: *Ann. Rev. Phytopathol.* 28, 425 (1990).
- Richardson M.: *Methods Plant Biochem.* 5, 259 (1991).
- Richardson M., Cossins L.: *FEBS Lett.* 45, 11 (1974).
- Lee M. C. S., Scanlon M. J., Craik D. J., Anderson M. A.: *Nat. Struct. Biol.* 6, 526 (1999).
- Walsh T. A., Twitchell W. P.: *Plant Physiol.* 97, 15 (1991).
- Krizaj I., Drobnie-Kosorok M., Brzin J., Jerala R., Turk V.: *FEBS Lett.* 333, 15 (1993).
- Ritonja A., Krizaj J., Mesko P., Kopitar M., Lucovnik P., Strukelj B., Pungecar J., Buttler D. J., Barrett A. J., Turk V.: *FEBS Lett.* 267, 13 (1990).
- Hass G. M., Ako H., Grahn D. T., Neurath H.: *Biochemistry* 15, 93 (1976).
- Solomon M., Belenghi B., Belledonne M., Monachem E., Levine A.: *Plant Cell* 11, 431 (1999).
- Lawrence P. K., Koundal K. R.: *J. Biotech.* 5 (1), 93 (2002).
- Mickel C. E., Standish J.: *University of Minnesota, Agricultural Experimental Station Technical Bulletin* 178, 1 (1947).
- Lipke H., Fraenkel G. S., Liener I. E.: *Food Chem.* 2, 410 (1954).
- Wu J., Haard N. F.: *Comp. Biochem. Physiol.* 127, 20 (2000).
- Johnson R., Narvez J., An G., Ryan C.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 86, 9871 (1989).
- Fabrick J., Behnke C., Czaplá T., Bala K., Rao A. G., Kramer K. J., Reeck G. R.: *Insect Biochem.* 32, 405 (2002).
- Pusztai A.: *Planta* 107, 121 (1972).
- Derbyshire E., Wright D. J., Boulter D.: *Phytochemistry* 15, 3 (1976).
- Jongsma M. A.: *The Resistance of Insects to Plant Proteinase Inhibitors*. Center for Plant Breeding and

- Reproduction Research, Wageningen University, Wageningen 1995.
35. Shain Y., Mayer A. M.: *Physiol. Plant.* 18, 853 (1965).
 36. Abe K., Emori Y., Kondo H., Suzuki K., Arai S.: *J. Biol. Chem.* 262, 16793 (1987).
 37. Morita S., Fukase M., Hoshino K., Fukuda Y., Yamaguchi M., Morita Y.: *J. Biochem. (Tokyo)* 119, 711 (1996).
 38. Valeski K., Fernandes S., Campos F. A. P., Do Val R. R., Xavier-Filho J.: *Plant Sci.* 74, 179 (1991).
 39. Kennedy A. R.: *Pharmacol. Ther.* 78, 167 (1998).
 40. Billings P. C., Morrow A. R., Ryan C. A., Kennedy A. R.: *Carcinogenesis* 10, 687 (1989).
 41. Huang C., Ma W.-Y., Ryan C. A., Dong Z.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94, 11957 (1997).
 42. Weitzman S. A., Weitberger A. B., Clark E. P., Stos- sel T. P.: *Science* 1985.
 43. Ruseler-van Embden J. G. H., van Lieshout L. M. C., Smits S. A., van Kessel I., Laman J. D.: *Eur. J. Clin. Invest.* 34, 303 (2004).
 44. Owyang C., Louie D. S., Tatum D.: *J. Clin. Invest.* 77, 2042 (1986).
 45. Pi-Sunyer X., Kissileff H. G., Thornton J., Smith G. P.: *Physiol. Behav.* 29, 627 (1982).
 46. Smith G. P., Gibbs J.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 499, 132 (1987).
 47. Hill A. J., Perkin S. R., Ryan C. A., Blundell J. A.: *Physiol. Behav.* 48, 241 (1990).

L. Hanusová and V. Čurn (*Biotechnology Centre, Faculty of Agriculture, South-Bohemian University, České Budějovice*): **Protease Inhibitors in Potato Tuber**

At present, protease inhibitors are one of the most studied natural substances. They represent a very heterogeneous group for which uniform rules for their classification have not yet been established. Protease inhibitors occurring in potato tubers can be classified in two ways: according to general classification of protease inhibitors or specific classification for protease inhibitors from potato tubers. Attention is devoted to protease inhibitors especially for their potential use in plant protection and medicine. Potato-tuber protease inhibitors are active against some insect pests such as larvae of genus *Diabrotica*. In medicine, they can be active in treatment of cancer, dermatitis and obesity.

VŠCHT Praha přijme dva techniky/laboranty/ky i absolventy/ky SŠ biologického zaměření, výhodou praxe v biochemické či mikrobiologické laboratoři.

Nabízíme:

- samostatnou práci na špičkovém pracovišti,
- příležitost k profesnímu rozvoji,
- pracoviště v blízkosti metra,
- pružnou pracovní dobu,
- příspěvek na stravování, návštěvu kulturních a sportovních zařízení, penzijní připojištění.

Nástup: 1. 8. 2007

Kontakt: Ing. Pavla Vlčková, pavla.vlckova@vscht.cz, tel. 220443137

TECHNOLOGICKÉ A MIKROBIOLOGICKÉ ASPEKTY VÝROBY PIVA SO ZNÍŽENÝM OBSAHOM ALKOHOLU

RADOSLAV SELECKÝ a DANIELA ŠMOGROVIČOVÁ

Katedra biochemickej technológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika
daniela.smogrovicova@stuba.sk

Došlo 5.5.05, prepracované 4.1.07, prijaté 11.1.07.

Kľúčové slová: nealkoholické pivo, *Saccharomyces cerevisiae*, mutantné kvasinky, enzýmy cyklu trikarboxylových kyselín

Obsah

1. Úvod
2. Procesy používané na výrobu nealkoholických pív
 - 2.1. Odstránenie alkoholu z piva pomocou membránových a evaporáčnych techník
 - 2.2. Zastavená a limitovaná fermentácia
 - 2.3. Použitie mutantných kvasiniek
3. Genetika pivovarských kvasiniek
 - 3.1. Cyklus trikarboxylových kyselín a poruchy v génoch kódujúcich jeho enzýmy
 - 3.2. Genetické techniky využiteľné v pivovarníctve
 - 3.3. Mutagenéza pivovarských kvasiniek
4. Záver

1. Úvod

Podľa legislatívy platnej na území Slovenskej republiky je nealkoholické pivo také, v ktorom obsah alkoholu neprekročil 0,5 obj.% a pivo so zníženým množstvom alkoholu (ďalej nízkoalkoholické) s limitom maximálne 1,2 obj.% alkoholu¹.

Najväčším nedostatkom nealkoholických a nízkoalkoholických pív je stále ich chuťový profil. Vyčítajú sa im: kvasinková príchuť, nedostatočná plnosť, chyby v aromatických charakteristikách, alebo v horších prípadoch aj zápach po síre². Intenzívna chmeľová a sladová aróma môže byť odstránená použitím vhodných extraktov, no pivo určené na distribúciu na trh musí spĺňať isté kvalitatívne štandardy. Ich dosiahnutie je možné aj pomocou nasledujúcich metód³:

- použitím studeného vodného extraktu sladu získaného

pri 60 °C, aby sa zabránilo hydrolyze škrobu amylázami,

- vysokoteplotným rmutovaním, ktoré tiež obmedzuje aktivitu amyláz,
- „metódou použitého mláta“, t.j. opätovné rmutovanie použitého mláta s kyslou hydrolyzou alebo bez hydrolyzy^{3,4},
- použitím vysokokonzentrovaných mladín (high gravity brewing), pri ktorých kvasinky produkujú nepomerne viac esterov,
- Barretovou metódou, ktorá kombinuje pivo získané z nízko a vysoko koncentrovaných mladín, prevláda v ňom vôňa pochádzajúca z fermentácie vysoko koncentrovaných mladín⁴,
- využitím druhov kvasiniek neschopných skvasovať maltózu, napr. *Saccharomyces ludwigii*⁵.

Kosař a Procházka⁶ uvádzajú niektoré nežiaduce zmeny sensorického profilu nealkoholických pív produkovaných zastavenou alebo limitovanou fermentáciou. Je to najmä zvýšené pH piva, pretože pri prerušení kvasenia nedochádza k jeho prirodzenému poklesu, nižšia koncentrácia vytvoreného CO₂ a nedostatočná redukcia obsahu látok spôsobujúcich nezrelú, mladinovú vôňu a chuť piva. Nižšie pH je však možné dosiahnuť okysľovaním mladiny, obsah CO₂ sa dá zvýšiť dosycovaním hotového piva a vzniku mladinovej vône a chuti možno zabrániť vhodnou voľbou kmeňa kvasiniek, zložením surovín a premývaním s oxidom uhličitým.

Vďaka nízkemu množstvu etanolu sú nealkoholické piva omnoho náchylnejšie na kontamináciu. Jednou z možností, ako jej predísť, je okyslenie mladiny kyselinou mliečnou produkovanou fermentačne. Mliečne baktérie môžu byť imobilizované v reaktore ešte pred fermentáciou a slad, ktorý ním prechádza, je potom takto biologicky okyslený. Obvyklý charakter sladu je maskovaný a dosahuje sa vôňa typická po kyseline mliečnej⁷.

2. Procesy používané na výrobu nealkoholických pív

V súčasnosti sa pri výrobe nealkoholických a nízkoalkoholických pív uplatňujú prevažne nasledovné tri postupy^{3,8}:

- následné odstránenie etanolu z piva získaného obvyklou metódou kvasenia,
- prerušenie alebo obmedzenie kvasenia (zastavená alebo limitovaná fermentácia),
- použitie mutantných alebo inak defektných kmeňov pivovarských kvasiniek (nie však na génovej úrovni).

2.1. Odstránenie alkoholu z piva pomocou evaporačných a membránových techník

Odstránenie alkoholu z bežného piva môže byť uskutočňované technikami ako destilácia, vákuová destilácia, dialýza a reverzná osmóza⁹, ktorá sa v poslednom čase robí aj kontinuálnym spôsobom⁴. Dealkoholizáciou je možné získať pivo s koncentráciou 0,05 obj.% etanolu, toto však postráda typickú vôňu normálnych pív.

Na trhu sa výraznejšie presadila difúzia alkoholu cez membrány oproti vákuovej destilácii, pretože vykazuje absenciu termickej záťaže produktu. To však ešte nemusí znamenať, že membránové systémy sú v každom ohľade lepšie, a že ich použitím automaticky dostaneme kvalitnejšie nealkoholické pivo. Významné postavenie medzi membránovými technikami má dialýza. Vákuová destilácia sa javí ako výhodnejšia vzhľadom na vyššie náklady na membrány a vysokotlakové pumpy pri dialýze¹⁰, avšak môže podporovať syntézu zlúčenín zodpovedných za nežiaducu sladovú arómu a farbu.

Práca Zufalla a Wackerbauera¹⁰ predkladá výhody a nevýhody vyplývajúce z dialýzy pri rôznych spôsoboch použitia. Autori skúmali vplyv prietoku na oboch stranách membrán na efektívnosť procesu, spotrebu ohrevnej pary a chuťovú stabilitu piva. Z pôvodného piva s koncentráciou etanolu 4,8 obj.% vyprodukovali odalkoholizované pivo s koncentráciou 0,9 až 0,5 obj.% etanolu, čím ukázali, že dialýza je menej vhodnou metódou na dosiahnutie nízkych koncentrácií alkoholu v hotovom pive ako metóda prúdového odparovania.

Nealkoholické pivo zbavené alkoholom dialýzou mali vynikajúce senzorycké parametre, avšak ani zďaleka nedosahovali hodnoty východiskového piva. Takú kvalitu ani nie je možné dosiahnuť v dôsledku straty alkoholu. Niektoré pivovary kvôli zlepšeniu senzoryckých vlastností pív zmiešavajú dealkoholizované pivo s pivami vyprodukovanými z mladín s vyšším obsahom neskvastelných látok. Tieto sú len čiastočne skvasované a vzniknuté pivo sú nízkoalkoholické, majú plnú chuť, avšak často im chýba želaná sviežosť a rezkosť¹⁰.

2.2. Zastavená a limitovaná fermentácia

Najpoužívanejšou metódou na výrobu nealkoholických pív je tzv. limitovaná fermentácia. Je to modifikácia normálneho pivovarského fermentačného procesu, pri ktorom dochádza k nízkej produkcii etanolu (zvyčajne menej ako 0,5 obj.%). Na rozdiel od „limitovanej“ fermentácie, pri ktorej je potlačovaný metabolizmus kvasiniek, pri „zastavenej“ alebo „stop“ fermentácii sú kvasinky odstránené z mladého piva pred ukončením kvasenia. Väčšinou nie sú potrebné žiadne mimoriadne zariadenia alebo technológia, ale citlivá kontrola celého procesu.

Najrozšírenejším príkladom limitovanej fermentácie je metóda „Cold contact process“ alebo CCP, založená na

nasadení veľkého množstva kvasníc (až 135 mil. buniek/ml) a fermentácii pri teplote 0 až 1 °C počas niekoľkých dní. Proces umožňuje aj reguláciu chuti a vône piva, ktoré sa vyrába z klasických východiskových surovín. Kvasinky môžu mať pozmenený metabolizmus. V práci¹¹ sa uvádza, že koncentrácia karbonylov sa znížila v priebehu štyroch hodín, rozvetvených aldehydov po 24 hodinách. Koncentrácia 2,3-butandiínu a 2,3-pentandiínu sa zredukovala, pivo bolo bez mladinovej príchuti, vytvorili sa niektoré estery. Keď sa dosiahne požadovaná koncentrácia etanolu, fermentácia sa preruší odstránením kvasiniek.

V súčasnosti je CCP spôsob aplikovaný aj v reaktoroch s imobilizovanými kvasinkami s použitím mladiny s nízkou koncentráciou. Pri produkcii nízkoalkoholického piva imobilizačnou technikou sa teplota fermentácie (často pod 1 °C) a zdržný čas (menej ako 30 hodín) regulujú podľa požadovanej koncentrácie vytvoreného etanolu.

Kľúčovými zlúčeninami zodpovednými za prázdnu mladinovú príchuť piva vyrobeného CCP metódou sú aldehydy mladiny – 3-metylbutanal, 2-metylbutanal a 3-metyl-tiopropional. 3-Metylbutanal bol pri zakvasení dávkou 10⁷ buniek/ml v podmienkach CCP konvertovaný kvasinkami pri 0 °C na hodnotu 40 % pôvodnej koncentrácie, pri 28 °C to bolo 21 %. Alifatické aldehydy metional, pentanal a hexanal boli aj pri 0 °C odbúrané skoro úplne¹². Je to ovplyvnené aj prítomnosťou polyfenolov v silnejšie chmeľených pivách, ktoré môžu účinne viazať rozvetvené Streckerove aldehydy a zabraňovať tak ich metabolizovaniu kvasinkami. Keďže je známa ich obmedzená schopnosť odbúrať sa enzymaticky pri nižších teplotách, autori navrhujú pracovať najprv pri vyšších teplotách (20 °C) s geneticky modifikovanými kvasinkami, alebo znížiť obsah polyfenolov v mladine jej filtráciou na špecifických filtroch a kremeline s prídavkom polyvinylpyrrolidónu (PVPP). Pre imobilizované systémy môže byť výhodou aj skrátenie periódy medzi schladením mladiny a jej fermentáciou na zníženie obsahu polyfenolickej frakcie¹³.

Je tiež charakteristické, že v klasických alkoholických ležiakoch je aj prítomnosťou etanolu znížená tendencia Streckerových aldehydov, predovšetkým 3-metyl-tiopropión aldehydu, pretrvávajúť v mladine počas fermentácie, čím sa chuťové parametre hotového piva podstatne zlepšujú. V nealkoholických pivách je tento trend práve opačný vďaka prítomnosti mono- a disacharidov a absencii etanolu, čím je ich výroba z hľadiska chuťovej uspokojivosti podstatne náročnejšia^{14,15}.

Van Iersel a spol.¹⁶ skúmali možnosť použitia DEAE-celulózy ako nosiča pri výrobe nízkoalkoholického piva. Pri fermentácii kombinovali vysokú teplotu (15 až 20 °C) s krátkou dobou kvasenia (0,5 až 8 hodín), alebo nízku teplotu (0 až 5 °C) s dlhšou dobou kvasenia (nad 24 hodín). Zakvášalo sa vysokou koncentráciou buniek (10⁸/ml a viac), čo však môže byť nevýhodou, pretože už v samotnom inokuláte býva prítomné značné množstvo etanolu (až 6,5 %). Pri nehomogénnej zmesi mladiny a buniek môžu nastať také problémy, ako strata chute či smrť buniek. Preto bol vyvinutý tento imobilizovaný sys-

tém, ktorý umožňuje nárast účinnosti biomasy z 2 % na 15 %, čím sa skrúti čas fermentácie desaťnásobne. Nosič je z polystyrénu, na povrchu obalený DEAE-celulózou a kombinované stresové faktory (nízka teplota, anaeróbne podmienky) potláčajú rast a metabolizmus kvasiniek. Výsledná koncentrácia etanolu bola nižšia ako 0,08 obj.%. Neprítomnosť kyslíka ovplyvňuje redoxný potenciál kvasiniek a stimuluje produkciu esterov a vyšších alkoholov. Napriek stresovým podmienkam bol nárast biomasy zreteľný.

Podmienky prostredia ovplyvnili aj flokuláciu buniek. Najväčšia flokulácia nastala na konci exponenciálnej fázy rastu, naopak počas stacionárnej fázy sa rýchlo strácala. Nízke teploty zvyšovali flokulačné schopnosti 4-násobne, avšak optimálna teplota pre flokuláciu bola 25 °C. Ak nosičom bola DEAE-celulóza, zistilo sa, že vysoká flokulačná schopnosť stimuluje adhéziu buniek na DEAE-celulózu. Sledovala sa aj aktivita alkoholovej acetyltransferázy a tvorba esterov etylacetátu a izoamylacetátu počas limitovanej fermentácie s imobilizovanými kvasinkami v náplňovom kolónovom bioreaktore (packed-bed). Pri teplote 2 °C bola potlačená tvorba α -acetolaktátu. Uspokojujúca hladina bola dosiahnutá pri teplote 12 °C. Anaeróbne podmienky a nedostatočné množstvo nenasýtených mastných kyselín v mladine limitujú rast kvasiniek a tvorbu acetátových esterov. Zavedením aeróbných podmienok je možné dosiahnuť optimálny aromatický profil piva¹⁷. Autori vyrábali nealkoholické pivo v náplňovom kolónovom bioreaktore postupom opísaným v práci¹⁸.

Nealkoholické pivo vyrobené s použitím imobilizovaných kvasiniek, v porovnaní s pivom vyrobeným klasickou vsádzkovou fermentáciou, vykazuje lepšiu chuť aj konzistenciu. Bavaria BV z Holandska použila náplňový kolónový bioreaktor firmy Cultor s imobilizovanými kvasinkami na produkciu nealkoholického piva. Systém mal kapacitu 150 000 hl piva ročne a bolo to jedno z najlepších obchodných nealkoholických pív spoločnosti Bavaria. Viacero iných spoločností, menovite Faxe v Dánsku, Ottakringer v Rakúsku a nemenovaný pivovar v Španielsku, mali tiež zakúpenú túto technológiu a doteraz vyrábajú nealkoholické pivo imobilizovanými bunkami¹⁹.

Pivovar Beck & Co. z Bremeu testoval 60 litrový Schott reaktor s fluidizovanou vrstvou schopný produkovať 8 hl nealkoholického piva denne. Imobilizátom prechádza studená mladina s teplotou 0 °C a zdržný čas je nastavený tak, aby finálny produkt mal koncentráciu alkoholu pod 0,05 obj.%. Ten istý systém, len s modifikovanými podmienkami, bol navrhnutý na produkciu nízkoalkoholického piva¹⁹.

2.3. Použitie mutantných kvasiniek

V predošlom texte boli diskutované dva postupy, ktorými je možné získať nízkoalkoholické pivo: limitovaná fermentácia a odstránenie prebytočného etanolu použitím rôznych separačných techník. Nové trendy v tomto smere však uvažujú aj o priamych zásahoch do genómu pivovarských kvasiniek. Výsledkom by bolo rapidne ob-

medzenie nákladov na energiu, pretože aj destilácia, aj udržiavanie teploty okolo bodu mrazu pri limitovanej fermentácii sú energeticky značne náročné procesy.

Adachi a spol.²⁰ použili na výrobu nízkoalkoholického piva rekombinantný kmeň *Saccharomyces cerevisiae*, ktorému chýbal gén pre pyruvátdekarboxylázu. Pri pH 4,5 v mikroaeróbných podmienkach dosiahli maximálnu koncentráciu etanolu 19,75 g l⁻¹, v anaeróbných podmienkach 14,14 g l⁻¹.

Nasadenie rekombinantných kmeňov sa však nezlučuje s potravinárskou legislatívou u nás, a tak jedinou možnosťou ako zasiahnuť do genómu kvasinky zostáva mutagenéza. Kmene mutantné v génoch pre enzýmy z cyklu trikarboxylových kyselín (TCA) majú schopnosť produkovať znížené množstvá etanolu na úkor tvorby kyselín, ktoré sú medziproduktami práve TCA cyklu, tu sú však produktami terminálnymi²¹.

Machnicka a spol.²² popísali skupinu mutantov schopných exkrécie protónov do vody bez tlmivého roztoku. Mutanty označované ako *aci* boli rozdelené do šestnástich komplementárnych skupín, mnohé z nich nemajú schopnosť rastu na glycerole a produkujú kyseliny TCA cyklu. Autori predpokladajú poruchy týchto kmeňov v TCA a glyoxylátovom cykle.

Mutantné kvasinky v TCA cykle sa môžu využívať na výrobu nealkoholických nápojov z mladiny, avšak stratou enzymovej aktivity TCA cyklu produkujú zvýšené množstvo organických kyselín. Jeden z týchto kmeňov bol použitý na produkciu kyseliny fumarovej²¹. Iné TCA mutanty nemajú aktivitu enzýmov malátdehydrogenázy, izocitrátdehydrogenázy, citrát syntetázy, akonitázy alebo oxoglutarátdehydrogenázového komplexu.

Navrátil a spol.²³ študovali produkciu nealkoholického piva použitím mutantných kmeňov kvasiniek *Saccharomyces cerevisiae*. Nerekombinantné kmene s defektom v syntéze enzýmov TCA cyklu boli použité a aplikované vo voľnej aj imobilizovanej forme (nosičom bol pektát vápenatý) vo vsádzkovej fermentácii alebo v kontinuálnom systéme s náplňovým reaktorom. Po fermentácii boli základné parametre piva vyrobeného piatimi mutantnými kmeňmi porovnané s pivom vyrobeným zo štandardných kmeňov pivovarnických kvasiniek. Výsledky ukazujú, že pivo vyrobené mutantnými kvasinkami bolo charakteristické nižšou hladinou celkových alkoholov, s koncentráciou etanolu 0,07 až 0,31 hm.%. Vytvorené organické kyseliny, špeciálne kyselina mliečna, v koncentrácii do 1,38 g l⁻¹, poskytovali silný ochranný efekt na mikrobiálnu stabilitu finálneho produktu.

Organické kyseliny predstavujú okrem konzervačného účinku aj významnú sensorickú zložku fermentovaných nápojov, zvlášť vín. V súvislosti s výrobou nízkoalkoholického piva by mohli slúžiť na prekrytie jeho prázdnej mladinovej chuti. Sukcinát je hlavný komponent produkovaný kvasinkami pri výrobe japonského ryžového vína saké. Arikawa a spol.²⁴ použili pri saké fermentácii rôzne kmene *Saccharomyces cerevisiae* s porušenými gémi citrátového cyklu. Pri aeróbných podmienkach produkoval mutant s vyradeným génom *KGDI* menej sukcinátu ako

rodičovský kmeň, kým mutant s prerušeným génom *SDHI* vykazoval naopak zvýšenú produkciu sukcinátu. Pri 15% obsahu glukózy v médiu boli aeróbnou cestou najviac tvorené kyseliny jantarová, jablčná a fumarová. Pri zmene metabolizmu na anaeróbny nebola zaznamenaná žiadna tvorba sukcinátu pri prerušení génu *SDHI*, uplatnili sa tu skôr mutanty s poruchou v *KGDI*. To vedie k záveru, že tieto kmene majú dve cesty pre tvorbu sukcinátu a to aeróbne, oxidáciou α -ketoglutarátu a anaeróbne, redukciou fumarátu.

Arikawa a spol.²⁵ disrupciou jednotlivých génov TCA cyklu kvasiniek získali rôzne mutanty *S. cerevisiae* vhodné pre produkciu saké. Mutant s prerušeným génom *ACO1* pre akonitázu tvoril dvakrát väčšie množstvo malátu a dvakrát menej sukcinátu ako pôvodný kmeň K901, mutant s vyradenou fumarátreduktázou (*OSMI*) produkoval 1,5-násobne viac sukcinátu. Vína vykvasené kmeňmi s vyradenou α -ketoglutarátdehydrogenázou (*KGDI*) a fumarázou (*FUM1*) obsahovali menej sukcinátu ako vína vykvasené ich rodičovskými kmeňmi.

Yano a spol.²⁶ geneticky charakterizovali mutantný kmeň kvasinky 2OG-R39, vyšľachtený z kvasinky na výrobu saké Kyokai (K-701). Mutant mal vyššie transkripčné hladiny génov TCA cyklu, aj génov oxidačnej fosforylácie a dýchacieho reťazca oproti pôvodnému kmeňu K-701. Exprezia týchto génov je regulovaná komplexom Hap2/3/4/5p, špeciálne génom *HAP4*. Po jeho zakomponovaní do plazmidu a vložení do pôvodnej kvasinky K-701, táto zintenzívnila dýchanie a produkovala viac malátu a sukcinátu.

Aplikácia kvasiniek mutantných v génoch kódujúcich enzýmy TCA cyklu sa tak javí ako vhodná alternatíva ku klasickým metódam na výrobu nealkoholického piva.

3. Genetika pivovarských kvasiniek

Chromozómy jadrovej DNA obsahujú 80–85 % celkovej DNA v bunke kvasinky. V haploidnej bunke nesú približne 15 000 génov a pred zmapovaním genómu bolo plne sekvenovaných iba približne 1000 génov zo 16 chromozómov jadrovej DNA²⁷. Celkový dnes známy genóm pozostáva z 13 392 kb DNA, z čoho 5901 pripadá na otvorené čítacie rámce (gény) a iba 50 % z nich vykazuje funkcie, ktoré im boli pripisované.

Extrachromozomálna DNA kvasinky pozostáva z 50 až 100 kópií 2 μ m DNA na bunku (perspektívnej z hľadiska rekombinantných techník), ďalej z 10–40 cyklických molekúl mitochondriálnej DNA o dĺžke 75 kbp a z dvojreťazcovej ds-RNA lokalizovanej v cytoplazme, v časticiach podobných vírusom. ds-RNA je vo väčšine prípadov prítomná v tzv. L-forme, M-formu obsahujú „killer“ kmene *Saccharomyces cerevisiae* a nesie informáciu pre produkciu toxínu, ako aj informáciu zodpovednú za produkciu imunitného faktora voči nemu²⁸.

Kmeň *S. cerevisiae* S288 a jeho diploidný derivát X2180 boli vyšľachtené začiatkom päťdesiatych rokov a 85 % ich genetického materiálu pochádza z vinnej kvasinky izolovanej v roku 1938 z hníjúcich fig v Kalifornii²⁹.

Tento kmeň bol vybraný pre tzv. „yeast genome project“ a jeho genóm je dnes kompletne sekvenovaný a charakterizovaný. Nevýhodou je však odlišnosť istých vlastností S288, ako laboratórneho kmeňa, od kmeňov vyšľachtených pre priemyselné účely.

3.1. Cyklus trikarboxylových kyselín a poruchy v génoch kódujúcich jeho enzýmy

Cyklus trikarboxylových kyselín (TCA cyklus) nazývaný tiež Krebsov alebo citrátový cyklus je lokalizovaný v mitochondriách a v spriahnutí s elektrón-transportným reťazcom a oxidatívnou fosforyláciou zabezpečuje tvorbu energie vo forme ATP, a medziproduktov pre ďalšie biosyntézy.

Z hľadiska regulácie cyklu sú dôležité tri miesta: Vstup acetylových zvyškov do citrátového cyklu a jeho rýchlosť reguluje hladina ATP v bunke. Syntéza citrátu z oxalacetátu a acetyl-CoA je prvým dôležitým regulačným miestom. ATP ako alosterický inhibítor citrát syntetázy spôsobuje zvýšenie K_M hodnoty pre acetyl-CoA, čím sa zníži tvorba citrátu. Druhým úzkym miestom sú reakcie katalyzované izocitrátdehydrogenázou, ktorá je alostericky stimulovaná ADP tým, že zvyšuje jej afinitu k substrátom. Väzba izocitrátu, NAD^+ , Mg^{2+} a ADP je spolupôsobiaci, $NADH$ aj ATP pôsobia naopak inhibične. Tretie regulačné miesto v cykle trikarboxylových kyselín predstavuje 2-oxoglutarátdehydrogenázový komplex, ktorý inhibujú sukcinyl-CoA a $NADH$, produkty reakcie, ktorú katalyzuje³⁰.

Gény pre enzýmy TCA cyklu, ich umiestnenie, dĺžka ako aj fenotypové prejavy spojené s ich prerušením sú zhrnuté tabuľke I.

3.2. Genetické techniky využiteľné v pivovarníctve

Vo všeobecnosti je v pivovarníctve cieľom čo najvyššia efektívnosť využitia vstupných surovín, ako aj tomu zodpovedajúca produktivita bez znehodnotenia kvality výstupného produktu. Vlastnosti, ktoré sú z tohto uhla pohľadu dôležité pre pivovarské kvasinky, môžu byť zhrnuté do nasledujúcich bodov:

- schopnosť dostatočne hlbokého prekvasenia substrátu bez neočakávaných odchýliek v rýchlosti rastu,
- efektívna utilizácia maltózy a maltotriózy, spojená s ich konverziou na etanol,
- schopnosť vysporiadať sa so stresovými podmienkami navodenými koncentráciou alkoholu, teplotou a osmotickým tlakom,
- reprodukovateľná produkcia korektných hladín látok zodpovedných za chuť a arómu,
- ideálny flokulačný charakter zodpovedajúci zvolenému fermentačnému procesu,
- uchovanie si viability počas skladovania a transportu a
- genetická stabilita⁴⁵.

Tabuľka I

Gény kódujúce jednotlivé enzýmy cyklu trikarboxylových kyselín, ich dĺžka, lokalizácia a fenotypový prejav pozorovaný u mutantov kvasiniek *Saccharomyces cerevisiae* v dôsledku ich prerušenia

Enzým	Gén	Chromozóm	Dĺžka [bp]	Fenotypový prejav
Pyruvátdehydrogenázový komplex	<i>PDA1</i>	V.	1263	redukovaný rast na glukóze ³¹
	<i>PDH1β</i>	II.	1101	smrť ³²
	<i>LPD1</i>	VI.	1500	rast na glukóze, redukovaný rast na etanole, nerastú na acetáte a glycerole ³³
	<i>PDX1</i>	VII.	1233	-
Citrátsyntáza	<i>CIT1</i>	XIV.	1440	neschopnosť rastu na glycerole, acetáte a laktáte, auxotrofia na glutamát ³⁴
	<i>CIT2</i>	III.	1383	neschopnosť rastu na glycerole, acetáte a laktáte, auxotrofia na glutamát ³⁴
Akonitáza	<i>ACO1</i>	XII.	2337	neschopnosť rastu na glycerole, acetáte, laktáte a etanole, auxotrofia na glutamát ³⁵
NAD ⁺ -dependentná izocitrátdehydrogenáza	<i>IDH1</i>	XIV.	1083	redukovaná schopnosť rastu na glycerole, laktáte a pyruváte ³⁶
	<i>IDH2</i>	XV.	1110	redukovaná schopnosť rastu na glycerole, laktáte a pyruváte ³⁶
2-Oxoglutarát dehydrogenázový komplex	<i>KGD1</i>	IX.	3045	rast na glukóze, redukovaný rast na etanole, neschopnosť rastu na nefermentovateľných zdrojoch uhlíka ³⁷
	<i>KGD2</i>	IV.	1392	rast na glukóze, redukovaný rast na etanole, neschopnosť rastu na nefermentovateľných zdrojoch uhlíka ³⁷
	<i>LPD1</i>	VI.	1500	rast na glukóze, redukovaný rast na etanole, neschopnosť rastu na nefermentovateľných zdrojoch uhlíka ³⁷
Sukcinyl-CoA ligáza	<i>LSC1</i>	XV.	990	rast na glukóze a acetáte, redukovaný rast na pyruváte a glycerole ³⁸
	<i>LSC2</i>	VII.	1284	rast na glukóze a acetáte, redukovaný rast na pyruváte a glycerole ³⁸
Sukcinátdehydrogenáza	<i>SDH1</i>	XI.	1923	neschopnosť dýchať a rásť na glycerole ³⁹
	<i>SDH2</i>	XII.	801	neschopnosť dýchať a rásť na glycerole ³⁹
	<i>SDH3</i>	XI.	597	redukovaný rast na glycerole a etanole, neschopnosť rastu na laktáte ⁴⁰
	<i>SDH4</i>	IV.	596	neschopnosť rastu na glycerole ⁴¹
Fumaráza	<i>FUM1</i>	XVI.	1467	redukovaný rast na glycerole, auxotrofia na aspartát, asparagín a serín ⁴²
Malátdehydrogenáza	<i>MDH1</i>	XI.	1005	neschopnosť rastu na glycerole, laktáte a acetáte ⁴³
	<i>MDH2</i>	XV.	1272	neschopnosť rastu na glycerole, laktáte a acetáte ⁴³
	<i>MDH3</i>	IV.	1082	zníženie rýchlosti rastu na acetáte ⁴⁴

Na dosiahnutie týchto vlastností je možné využiť jednu z nasledujúcich techník zásahu do genetickej výbavy kvasinky. Každá z nich je spojená s určitými výhodami a nevýhodami, mnohé z nich sú bežne aplikované vo výskume, ich využiteľnosť v praxi je však často sporná. Jedná sa o mutáciu a selekciu, hybridizáciu, ojedinelé párova-

nie („rare mating“) spočívajúce v spárovaní laboratórneho kmeňa požadovaných vlastností s priemyselným mutantom s poruchou v dýchacom reťazci („petit mutant“), fúziu sféroplastov a metódy rekombinantnej DNA, zahŕňajúce najmä transformáciu s následnou stabilizáciou genómu a zabezpečením požadovanej expresie⁴⁵.

Techniky rekombinantnej DNA umožnili konštrukciu kmeňov, schopných utilizovať širšie spektrum sacharidov (zabudovaním glukozamyláz, bifunkčných amylolytických enzýmov, či β -glukanáz) a zvýšiť efektivitu fermentácie (zosilnením expresie skupiny *MAL* génov zodpovedných za skvasovanie maltózy a maltotriózy). Pomocou týchto technológií boli vyvinuté pivovarské kvasinky s proteolytickou aktivitou, antikontaminačnými vlastnosťami a modifikovanou flokuláciou (ovplyvnenie expresie skupiny génov s označením *FLO*). Nemenej dôležitá je eliminácia nevyhnutnosti chuťového dozrievania piva v ležiackych tankoch. Za týmto účelom boli vyvinuté kvasinky so zredukovanou schopnosťou produkovať diacetyl (vložením enzýmu acetolaktátdekarboxylázy), sírovodík, oxid siričitý (inaktíváciou génu *MET14*) a dimetylsulfid (disrupciou génu *MXR1*, kódujúceho metionínsulfoxidreduktázu). Zvýšenie produkcie aromatických zlúčenín je zase spojené so zvýšením produkcie oxidu siričitého a acetátových esterov, ktorých syntézu zabezpečujú alkoholacetyltransferázy, kódované skupinou génov *ATF1*, *LgATF1* a *ATF2* (cit.⁴⁵).

Za účelom zníženia obsahu etanolu v pive bol nadmerne exprimovaný gén *GPD 1*, kódujúci glycerol-3-fosfátdehydrogenázu v pivovarskej kvasinke *Saccharomyces cerevisiae* var. *carlsbergensis*. Obsah glycerolu v experimente simulujúcom kvasenie na 11,38 % mladine vzrástol 5,6-krát, množstvo etanolu kleslo o 18 % oproti pôvodnému kmeňu z 37 na 30,4 g l⁻¹. Nedostatkom bol závažný nárast koncentrácie acetoínu, diacetylu a acetaldehydu⁴⁶.

S rozvojom techník genetickej modifikácie buniek vzrástol záujem vedcov o problémy kolonizácie životného prostredia geneticky modifikovanými organizmami, či nechcený prenos génov do voľne žijúcich organizmov. Postupne bola v jednotlivých krajinách vyvinutá legislatíva, ktorá zohľadňuje tieto riziká a zabezpečuje kontrolu. Všetky genetické techniky súvisiace s pivovarníctvom, však vždy spadali do nižších rizikových kategórií. Vo Veľkej Británii sa napríklad pred uvedením novej potraviny obsahujúcej GMO vyžaduje povolenie poradnej komisie pre nové potraviny a procesy (Advisory Committee on Novel Food and Processes – ACNFP), ktorá pracuje na základe nariadenia Európskej komisie EC 258/97 o nových potravinách (Novel Food Regulations) a je zložená z nezávislých expertov menovaných príslušným ministerstvom⁴⁷.

V Slovenskej republike je táto problematika zohľadnená v Zákone NR SR č. 152/1995 Z. z. o potravinách, v znení neskorších predpisov a v Zákone NR SR č. 151/2002 Z. z. o používaní genetických technológií a geneticky modifikovaných organizmov, ako aj vo vyhláske MŽP SR č. 252/2002, ktorou sa vykonáva tento zákon. Z uvedených noriem vyplýva, že spektrum povolených zásahov do genómu mikroorganizmov je značne široké, musí však spĺňať vymedzené bezpečnostné náležitosti a podliehať ustanoveným kontrolným mechanizmom. Najmä vďaka negatívnej publicite v médiách a verejnému záujmu je však zatiaľ v pivovarníckom priemysle vyvíjaná len malá aktivita, za účelom komerčného využitia geneticky modifikovaných kvasiniek.

Mutagenéza a následná selekcia (najmä fyzikálnymi mutagénmi) tak na základe svojej materiálno-technickej, ako aj inštrumentálnej nenáročnosti predstavuje ľahko aplikovateľnú metodiku v praxi a je schopná už v krátkej budúcnosti prelomiť bariéru zdráhania sa geneticky modifikované mikroorganizmy pri výrobe piva použiť.

3.3. Mutagenéza pivovarských kvasiniek

Mutácia je každá zmena génu, ktorá sa zachováva pri autoreprodukcií genetického materiálu, a to ešte aj vtedy, keď už prestal pôsobiť činiteľ, ktorý ju zapríčinil⁴⁸. Činiteľ, ktorý mutáciu zapríčinil, sa nazýva mutagén. V prírode sa vyskytujú mutácie s nízkou početnosťou, asi 10⁻⁴ až 10⁻⁸, ktorých príčina nám nie je známa. Nazývame ich samovoľné alebo spontánne mutácie⁴⁹. Indukované mutácie sú vyvolané cielene, pôsobením určitého mutačného činiteľa, alebo kombináciou viacerých. Základné členenie mutagénov je nasledovné:

- fyzikálne mutagény (ionizujúce a neionizujúce žiarenie, teplota...),
- chemické mutagény (rôzne alkylačné činidlá, farbivá, kyselina dusitá...).

Najpriateľnejšou formou mutácie buniek určených pre potravinársku výrobu je ich vystavenie účinkom UV žiarenia. UV žiarenie je zložkou slnečnej elektromagnetickej radiácie a na základe jeho vlnovej dĺžky sa dá rozdeliť na tri skupiny: UV-A (320–390 nm), UV-B (280–320 nm) a UV-C pod 280 nm (cit.⁵⁰). Najmä krátkovlnové ultrafialové žiarenie má letálny účinok a pôsobí predovšetkým na DNA. Ultrafialové žiarenie nemusí priamo pôsobiť na bunku. Stačí, keď sa ožiari živná pôda, na ktorej sa budú bunky pestovať. Tento mutačný účinok sa však prejaví len vtedy, ak sa v ožiarenej živnej pôde vyskytujú aminokyseliny. Ožiarené minerálne prostredie mutácie nezapríčiňuje. Intenzita mutagénneho účinku ožiareného prostredia je priamo úmerná obsahu vody. Mutagénny účinok UV žiarenia je podobne ako u ionizujúceho žiarenia zapríčinený vznikom aktívnych skupín, kedy tieto v prípade ionizujúceho žiarenia vznikajú ionizáciou vody, v prípade UV žiarenia pohlcovaním kvánt energie biologicky významnými molekulami, najmä aminokyselinami. Na bunkovej úrovni dochádza k zlomu v reťazci DNA, alebo k búraniu vodíkových väzieb, čo sa prejaví dimerizáciou pyrimidínov, spojením dvoch susedných tymínov, priečnou väzbou dvoch tymínov medzi závitnicami DNA, spájaním cytozín-tymín, uridín-tymín, alebo dvoch uridínov a hydratáciou cytozínu⁴⁹.

Mutagénne a inaktivačné účinky UV žiarenia vlnovej dĺžky 254 nm, spolu so zvýšenou teplotou (45–60 °C) na arteficiálny diploidný kmeň *S. cerevisiae* T1, heterozygotný pre gén *ADE2* (*ade 2-192/ade 2-45*) skúmali Petin a spol.⁵⁰. Simultánne pôsobenie hypertermie a UV svetla zvyšuje frekvenciu UV-indukovaných mitotických rekombinácií (crossing-over). Zosilňujúci účinok je funkciou intenzity žiarenia, pretože frekvencia rekombinácií bola oveľa vyššia pri svetelnom toku 1,5 W m⁻², ako pri 0,5 W m⁻². Percento prežívajúcich buniek sa naopak zni-

žovalo úmerne zvyšujúcej sa intenzite žiarenia. Zvýšená teplota pôsobí ako inhibítor opravných mechanizmov, preto výsledky pri stredných dávkach žiarenia a vyššej teplote sú relatívne blízke výsledkom dosiahnutým pri vyšších dávkach žiarenia a nižšej teplote.

UV žiarením indukované mutácie podliehajú v bunkách kvasiniek niekoľkým opravným mechanizmom. Jedná sa najmä o fotoreaktívny účinok, kedy sa mutagénny účinok na kvasinky zníži, ak sa kultúra po ožiarení vystaví účinku viditeľného svetla a mutagénne účinky radiácie sa môžu oslabiť aj tým, že ožiarené bunky sa pred vysiatím na živný agar udržiavajú istý čas v destilovanej vode, čo sa označuje ako LHR (liquid holding recovery). Iný opravný mechanizmus je rekombinácia. Jadrové mutanty, ktoré nemajú schopnosť rekombináciou spôsobom opravovať poruchy zapríčinené mutagénom, boli v literatúre označované ako *rec⁻*. Blokovaním génov zodpovedných za opravy DNA boli pripravené mutanty citlivé na žiarenie. Mutácie *rad1* až *rad22* sú kontrolované génni citlivými na UV žiarenie, *rad50* až *rad57* sú citlivé hlavne na röntgenové žiarenie. Okrem toho sú známe mutanty *rev1*, *rev2* (= *rev5*) a *rev3*, ktoré sa izolovali na zníženie počtu mutantov indukovaných ultrafialovým žiarením na lokuse *arg4-17* (cit.⁴⁹).

Brendel a spol.⁵¹ popisali 10 mutantov *Saccharomyces cerevisiae* citlivých na účinok psoralénov aplikovaných v dermatoterapii. Mutanty boli neschopné opráv na UV žiarením poškodené DNA. Zodpovedajúce gény rozdelili do troch kategórií. Prvá pozostáva zo siedmich génov prislúchajúcich všeobecným, alebo špecifickým opravám ľahkých poškodení DNA. Tri z nich, *PSO1/REV3*, *PSO8/RAD6*, a *PSO9/MEC3*, sú alelické k doteraz známym opravným génom, zvyšné tri (*PSO2/SNM1*, *PSO3/RNR4* a *PSO4/PRP19*) sú novo objavené. Druhú skupinu reprezentuje gén *PSO5/RAD16*, kódujúci DNA helikázu zabezpečujúcu nukleotidové excízne opravy DNA (NER) a do tretej skupiny patria gény *PSO6/ERG3* a *PSO7/COX11*, ktoré kódujú ergosteroldesaturázu, slúžiacu ako štruktúrálna jednotka membrány, resp. zložku dýchacieho reťazca cytochróm c oxidázy. Oba enzýmy ovplyvňujú opravy DNA iba nepriamo.

V pivovarníckej praxi sa často využívajú spontánne mutácie meniace flokulačné charakteristiky kvasiniek. Tieto zmeny umožnili výrobu pív typu *ale* pomocou mutantov schopných spodného kvasenia, ktoré boli získané z príslušných kmeňov vrchného kvasenia, v cylindro-kónických tankoch. Boli tiež izolované kvasinky s redukovanou schopnosťou produkcie esterov a vyšších alkoholov, ako spontánne mutanty vykazujúce rezistenciu na glukozamín.

Indukovanou mutagenézou, použitím *N*-metyl-*N*-nitro-*N*-nitrozoguanidínu a UV žiarenia, boli pripravené mutanty auxotrofné na valín a metionín, so zníženou produktivitou nežiadúceho diacetylú a sírovodíka, v rôznych flokulačných variantoch. Cenné pre prax sú aj mutanty s rezistenciou na glukózový analóg 2-deoxyglukózu. Pri štandardných fermentačných podmienkach je dôsledkom katabolickej represie utilizovaná maltóza. Utilizovať sa

začína vtedy, keď polovica z pôvodného obsahu glukózy v mladine je už zmetabolizovaná. Mutanty rezistentné voči 2-deoxyglukóze sú dereprimované a využívajú maltózu aj glukózu súčasne. Mutačné techniky môžu byť použité aj na prípravu geneticky značených kmeňov kvasiniek⁴⁵.

4. Záver

Pivá so zníženým obsahom alkoholu a nealkoholické pivá sa v prevažnej miere vyrábajú separáciou alkoholu z bežným spôsobom vykvasených pív, za použitia vákovej destilácie. Táto technika však v značnej miere tepelne zaťažuje produkt a prispieva k zhoršeniu vône a chute vyrobených pív. Šetnejší spôsob dealkoholizácie predstavuje reverzná osmóza, ktorou sú získavané nealkoholické pivá uspokojivej kvality. Alternatívnu možnosť predstavuje limitovaná fermentácia mladiny nízkej stupňovitosti pri teplotách blízkyh nule, alebo zastavená fermentácia, pri ktorej sa po vytvorení požadovaného množstva etanolu kvasinky odstraňujú.

Pivá so zníženým obsahom alkoholu sa však vyznačujú prázdnu mladinovou chuťou a sú náchylnejšie na bakteriálnu kontamináciu. Jednou z možností, ako tieto nedostatky odstrániť, je využitie kvasiniek mutantných v cykle trikarboxylových kyselín. Tieto produkujú počas svojej aeróbnej fázy kyseliny ako citrónová, jantárová, fumarová, či jablčná. V anaeróbnej fáze okrem malého množstva etanolu vytvoria aj kyselinu mliečnu, ktorá vďaka tomu, že poskytuje nízke pH, chráni produkt pred nežiaducou bakteriálnou kontamináciou. Produkované kyseliny obohacujú chuť pív, slúžia ako sensoricky významná zložka. Problematika nie je ešte do detailov zvládnutá, najmä z dôvodu nešpecifickosti UV mutácie, ktorá predstavuje potravinársky „najčistejšiu“ formu prípravy mutantných kvasiniek, preto je nevyhnutný ďalší výskum na génovej úrovni.

LITERATÚRA

1. Výnos Ministerstva pôdohospodárstva SR a Ministerstva zdravotníctva SR z 10. augusta 2000 č. 2313/4/2000-100, ktorým sa vydáva hlava potravinového kódexu SR upravujúca nápoje; 3. Časť, osobitné požiadavky; XV. Hlava, nápoje; 3. Diel, pivo, §29 (7), (2000).
2. Kavanagh T. E., Clarke B. J., Gee P. S., Miles M., Nicholson B. N.: Tech. Q. – Master Brew. Assoc. Am. 23, 111 (1991).
3. Müller R.: Ferment 3, 224 (1990).
4. Perpete P., Collin S.: Cerevisia 1, 27 (1999).
5. Narziss L., Miedaner H., Kern E., Leibhard M.: Brauwelt Int. IV, 396 (1992).
6. Kosař K., Procházka S.: *Technologie výroby sladu a piva*. Výskumný ústav pivovarský a sladařský a.s., Praha 2000.
7. Pittner H., Back W., Swinkels W., Meersman K., Van Dieren Ch., Lommi H.: Eur. Brew. Conv., *Proceedings of the 24th Congress, Oslo, 1993*. 569 (1993).

8. Stein W.: MBBA Tech. l Quater. 30, 54 (1993).
9. Van Iersel M. F. M., Meersman E., Arntz M., Rombouts F. M., Abee T.: J. Inst. Brew. 104, 131 (1998).
10. Zufall C., Wackerbauer K.: Monatsschr. Brauwiss. 53, 164 (2000).
11. Schur F.: Eur. Brew. Conv., *Proceedings of the 19th Congress, London, 1983*. 353 (1983).
12. Perpete P., Collin S.: Food Chem. 66, 359 (1999).
13. Perpete P., Collin S.: Food Chem. 70, 457 (2000).
14. Perpete P.: Food Chem. 71, 379 (2000).
15. Nakanishi K., v knihe: *Yeast and Biocatalysis* (Verachter H., de Mot R., ed.), Marcel Dekker Inc., New York and Basel 1990.
16. Van Iersel M. F. M., Meersman E., Swinckels W., Abee T., Rombouts F. M.: J. Ferm. Bioeng. 77, 41 (1995).
17. Van Iersel M. F. M., Van Dieren B., Rombouts F. M., Abee T.: Enzyme. Microb. Technol. 24, 407 (1999).
18. Lommi H., Swinkels W., van Dieren B.: European Patent No. 0, 424, 794, A3, (1990).
19. Mensour N. A., Margaritis A., Briens, C. L., Pilkington H., Russell I.: J. Inst. Brew. 103, 363 (1997).
20. Adachi E., Torigoe M., Sugiyama M., Nikawa J., Shimizu K.: J. Ferment. Bioeng. 86, 284 (1998).
21. Kacliková E.: Bull. Potravin. Vysk. 3, 135 (1996).
22. Machnicka B., Grochowalska R., Boniewska-Bernacka E., Słomińska L., Lachowicz T. M.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 325, 1030 (2004).
23. Navrátil M., Dömény Z., Šturdík E., Šmogrovičová D., Gemeiner P.: Biotechnol. Appl. Biochem. 35, 133 (2002).
24. Arikawa Y., Kuroyanagi T., Shimosaka M., Muratsubaki H., Enomoto K., Kodaira R., Okazaki M.: J. Biosci. Bioeng. 87, 28 (1999).
25. Arikawa Y., Kobayashi M., Kodaira R., Shimosaka M., Muratsubaki H., Enomoto K., Okazaki M.: J. Biosci. Bioeng. 87, 333 (1999).
26. Yano S., Asano T., Kurose N., Hiramatsu J., Shimoi H., Ito K.: J. Biosci. Bioeng. 96, 332 (2003).
27. Mortimer R. K., Contopoulou C. R., King J. S.: Yeast 8, 817 (1992).
28. Wickner R. B.: Arch. Biochem. Biophys. 222, 1 (1983).
29. Mortimer R. K., Johnson J. R.: Genetics 113, 35 (1986).
30. Stryer L.: *Biochemistry*. 4. vyd. W. H. Freeman and Company, New York 1995.
31. Wenzel T. J., Van Den Berg M. A., Visser W., Van Den Berg J. A., De Steensma H. Y.: Eur. J. Biochem. 209, 697 (1992).
32. Miran S. G., Lawson J. E., Reed L. J.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90, 1252 (1993).
33. Dickinson J. R., Roy D. J., Dawes I. W.: Mol. Gen. Genet. 204, 103 (1986).
34. Burand J. P., Drillien R., Bhattacharjee J. K.: Mol. Gen. Genet. 139, 303 (1975).
35. Gandaloff S. P., Marguet D., Lauquin G. J. M.: Mol. Cell. Biol. 7, 3551 (1990).
36. Cupp J. R., McAlister-Henn L.: J. Biol. Chem. 267, 16417 (1992).
37. Mockovčiaková D., Janitorová V., Zigová M., Kacliková E., Zagulski M., Šubík J.: Curr. Genet. 24, 377 (1993).
38. Przybyla-Zawislak B., Dennis R. A., Zakharkin S. O., McCammon M. T.: Eur. J. Biochem. 258, 736 (1998).
39. Chapman K. B., Solomon S. D., Boeke J. D.: Gene 118, 131 (1992).
40. Daignan-Fornier B., Valens M., Lemire B. D., Fukuhara B.: J. Biol. Chem. 269, 15469 (1994).
41. Bullis B. L., Lemire B. D.: J. Biol. Chem. 269, 6543 (1994).
42. Wu M., Tzagaloff A.: J. Biol. Chem. 262, 12275 (1987).
43. McAlister-Henn L., Thompson L. M.: J. Bacteriol. 169, 5157 (1987).
44. Steffan J. S., McAlister-Henn L.: J. Biol. Chem. 267, 24708 (1992).
45. Hammond J. R. M., v knihe: *Brewing Microbiology*. 3. vyd. (Priest F. G., Campbell I., ed.). Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York 2003.
46. Nevoigt E., Pilger R., Mast-Gerlach E., Schmidt U., Freihammer S., Eschenbrenner M., Garbe L., Stahl U.: FEMS Yeast Res. 2, 225 (2002).
47. Hammond J., v knihe: *Genetic Modification in the Food Industry* (Roller S., Harlander S., ed.). Blackie, London 1998.
48. Klein J.: *Molecular Basis of Heredity*. Praha 1964.
49. Kocková-Kratochvílová A.: *Yeast and Yeast-Like Organisms*. VCH Publishers, Weinheim 1990.
50. Petin V. G., Kim J. K., Rassokhina A. V., Zhurakovskaya G. P.: Mutat. Res. 478, 169 (2001).
51. Brendel M., Bonatto D., Strauss M., Revers L. F., Pungartnik C., Staffi J., Henriques J.A.P.: Mutat. Res. 544, 179 (2003).

R. Selecký and D. Šmogrovičová (*Department of Biochemical Technology, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak Technical University, Bratislava*):
Technological and Microbiological Aspects of Low-Alcoholic Beer Production

This is a review of the current state of technology of non-alcoholic and low-alcoholic beer production. In the first part, processes involving alcohol removal from partially or fully fermented beers are described. The advantages and disadvantages of different methods of beer dealcoholisation, mainly membrane and evaporation technologies, are discussed. In the next part, methods of stopped and limited fermentation at low temperature as well as the use of mutant yeast strains are mentioned. The genetic background of the strains with a defect in the activity of the tricarboxylate-cycle enzymes and their use for the production of non-alcoholic and low-alcoholic beer are discussed in the last section. Particular aspects of this wide-range field can lead to improvement of properties of the non-alcoholic beer.

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

KVANTITATIVNÍ PCR DETEKCE NEPOVOLENÉHO PŘIBARVENÍ VÍNA BEZINKAMI (*Sambucus nigra*)

JIŘÍ DRÁBEK, MICHAELA JALŮVKOVÁ a IVO FRÉBORT

Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc
drabek@prfholnt.upol.cz

Došlo 22.5.06, přijato 31.8.06.

Klíčová slova: víno, přírodní barvivo, detekce, kvantitativní PCR, bez černý, *Sambucus nigra*

Úvod

Víno jako kontrolovaná komodita

Víno je jedinečný ušlechtilý nápoj, který je pro svou charakteristickou chuť, barvu a vůni spotřebitelsky velmi žádaný. Pro svou popularitu se již odedávna stává cílem napodobování a falšování. Proto i dnes je víno kontrolované ze zákona – jako révové víno se označuje jen víno vyrobené výhradně z hroznů révy vinné rodu *Vitis L.*; ostatní nápoje mohou být nanejvýše vínu podobné. Podle zákona 321/2004 Sb. je při výrobě révového vína zakázáno používat výrobní postupy nebo látky, které umožňují zmnožovat víno (např. přidáváním vody) a nebo ovlivňovat jeho základní vlastnosti.

Vlivy na barvu červeného vína

Mezi základní vlastnosti vína patří barva. Barva je počátek seznámení s vínem, první podráždění smyslů z tria: color, odor, sapor. Platí to obzvláště pro vína červená, i když ani u barvy špičkového bílého vína dnes nevystačíme jen s číroostí a absencí nečistot. Intenzita zbarvení červeného vína závisí na odrůdě, fenolické zralosti révy, ale také na technologickém postupu při zpracování hroznů. Tradiční macerace, kdy je mošt v dlouhodobém kontaktu s pecičkami a slupkami hroznů, uvolňuje více flavonoidů než modernější karbonická macerace nebo termovinifikace. Barva vína záleží také na pH, stupni zasiřeni a obsahu ethanolu v moštu.

Přírodní barva červeného vína

Přirozená barva červeného vína je způsobená anthokyaniny, patřícími do velké skupiny polyfenolických látek, souhrnně nazývaných flavonoidy. Anthokyaniny mají dvě složky: barevnou část nazývanou aglykon nebo také anthokyanidin a část cukernou, která je navázána glykosidickou vazbou na hydroxylové skupiny 3, 5 nebo 7 aglykonu. Cukerná část může být acylována kyselinou kumarovou, kávovou, ferulovou, sinapovou, hydroxybenzoovou, jablečnou, šťavelovou, maleinovou, jantarovou nebo octovou. V modrých hroznech odrůd *Vitis vinifera* nalézáme především 3-monoglukosidy a 3,5-diglukosidy aglykonů malvidinu a v menší míře petunidinu, peonidinu, delphinidinu, kyanidinu, pelargonidinu. Syntetizují se od fáze zaměkání hroznů (véraison) a přispívají k chuti vína, i když nepřímo – váží třísloviny a tím regulují trpkost.

Během zrání vína fenolické látky podléhají zásadním chemickým změnám – polymerují s taniny, kondenzují s cukry, acylují se, navzájem asociují a pigmentují^{1,2} – což se projeví i ve změně barvy, která může dosáhnout svůj vrchol – např. oranžovohnědý nádech u portského – a pak degradovat.

Přibarvení červeného vína

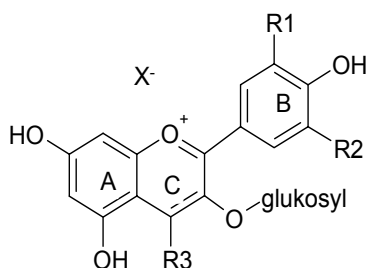
V podmínkách na severní hranici rozšíření pěstování révy vinné (což je i případ České republiky) je relativní nedostatek slunečního svitu, což při nedostatečné úpravě vinifikačního postupu vede ke světlejšímu, méně odpovídajícímu zbarvení červeného vína. Místo syntetických barviv mohou nepoctiví vinaři použít přírodní barviva, absorbujících viditelné elektromagnetické záření v takovém rozsahu, že to způsobuje červené vnímání barvy (pro výčet přírodních barviv viz Čopíková a spol.)³. Z dlouhé řady přírodních neanthokyanových barviv jen málo splňuje podmínku relativní dostupnosti, nízkých nákladů (ve srovnání s cenou kvalitních hroznů), vysokého absorpčního koeficientu ($>10\,000\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$), netoxicity, stálosti vůči oxidaci a (foto)chemickým změnám v kyselém prostředí, rozpustnosti v 10% až 15% roztoku ethanolu ve vodě a absence nežádoucího pachu.

Přímočařejším a bezpečnějším postupem je použít přírodní anthokyaniny, i když ani ty se podle vyhlášky 304/2004 Sb., části 4 „Barviva“ v bodě 3 do vína nemohou přidávat. Přírodní anthokyaniny extrahované z červeného zelí nebo jiných zdrojů (tab. I) jsou komerčně dostupné pod označením E163, ale je nasnadě i přímé přidání bezinek (*Sambucus nigra*) nebo bezinkové šťávy do rmutu nebo vína.

Bez černý je v Evropě hojně rozšířený. Historicky se bezinky používaly nejen proti chřipce a k barvení vlasů starověkých Římanek, ale i k přibarvení vín Claret nebo

Tabulka I
Přírodní anthokyaniny

Anthokyanidin	Zdroj	Substituenty na B a C kruhu (-R1, -R2, -R3)
Kyanidin	růže (<i>Rosa</i>), plody třešně (<i>Cerasus avium</i>), brusinky (<i>Rhodococcum vitis-idaea</i>), chrpa modrák (<i>Cyanus sequetum</i>), zelí červené (<i>Brassica oleracea</i>)	OH, H, H
Pelargonidin	pelargonie (<i>Pelargonium</i>)	H, H, H
Peonidin	pivoňka (<i>Paeonia officinalis</i>)	OCH ₃ , H, H
Malvidin	prvosienka (<i>Primula</i>), sléz lesní (<i>Malva sylvestris</i>)	OCH ₃ , OCH ₃ , H
Kvercetin	jablonoň (<i>Malus domestica</i>), švestka (<i>Prunus domestica</i>), jinan, broskvoň (<i>Prunus persica</i>), meruňka (<i>Prunus armeniaca</i>), třešeň pračí (<i>Cerasus avium</i>)	OH, H, O
Myrtilin, glukosid delfinidinu	violka (<i>Viola tricolor</i>)	OH, OH, H
Sambubiosid	bez černý (<i>Sambucus nigra</i>)	OH, H, H



Obr. 1. Obecné schéma anthokyaninů; substituenty R1, R2 a R3 nejběžnějších barevných aglykonů uvádí tabulka I

Bordeaux. V Portugalsku bylo jednu dobu přibarvování portského bezinkami tak časté, že vedlo k zákazu pěstování bezu.

Anthokyaniny v bezu černém patří mezi kyanidinglykosidy, řadíme zde 3-sambubiosid-3-glukosid, 3-sambubiosid-5-glukosid a 3,5-diglukosid. Množství těchto pigmentů se pohybuje v rozmezí 2 až 10 mg g⁻¹ čerstvých plodů⁴.

Detekce přibarvení červeného vína

V minulosti se k detekci potravinářských barviv používaly papírové, tenkovrstvé nebo kolonové chromatografické metody⁴, v současnosti se používá převážně metoda HPLC^{4,5}, často spřažená s hmotnostní spektrometrií⁶ nebo také s kapilární elektroforézou⁷, popř. s její zónovou modifikací CZE (cit.⁸). Tyto metody detekce anthokyaninů dosahují citlivosti kolem 0,1–1 mg l⁻¹ (cit.⁷).

Cíl práce

Dosavadní chromatografická detekce dobarvení vína anthokyaniny bezu černého je ztížena faktem, že relativní poměr révových anthokyaninů ve víně je dynamická veličina^{9,10} a přidávané bezinkové anthokyaniny jsou stejné chemické povahy, jako původní barvivo červeného vína. V této práci si klademe za cíl prozkoumat alternativní postup detekce bezinek v červeném víně – detekci pomocí kvantitativní PCR (qPCR). Předpokládáme, že takový postup by mohl sloužit jako komplementární, popřípadě potvrzovací metoda k metodám chromatografickým.

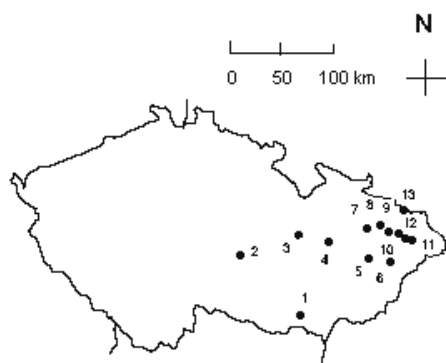
Experimentální část

Sběr vzorků

Mladé zdravé listy bezu černého byly sbírány na podzim 2004 na 56 stanovištích na Moravě (obr. 2), bezinky pak na jediném stanovišti v Olomouci.

Izolace DNA z listů bezu černého

Ze zdravého listu bylo víčkem 1,5 ml zkumavky vyříznuto 6 kroužků, ke kterým byl přidán 1 ml extrakčního roztoku (CTAB 2 %, TrisCl 50 mM pH 8, EDTA 50 mM pH 8,0 NaCl 1,1 M, LiCl 0,4 M, Tween 20 0,5 %, Triton X-100 0,5 %, PVP10 2 % (cit.^{11,12})). Špičkou pipety byla rozdrčena listová tkáň a zkumavka byla krátce zamíchána na vortexu. Vzorek byl inkubován 15 min při 80 °C a po ochlazení na pokojovou teplotu dvakrát extrahován 0,5 ml chloroformu (centrifugace 3 min 10 000×g a přenesení horní fáze). Poté byla horní fáze vysrážena jedním objemem isopropanolu, promyta 70% ethanolem, resuspendována ve 200 μl sterilní TrisCl – EDTA, pH 8 a skladována v mrazničce do dalšího použití. Koncentrace DNA



Obr. 2. Stanoviště sběru listů bezu černého (*Sambucus nigra*);

1. Hroznová Lhota (Jihomoravský kraj) – 2 ks, 2. Krásněves (Kraj Vysočina) – 2 ks, 3. Olomouc (Olomoucký kraj) – 9 ks, 4. Milenov (Olomoucký kraj) – 4 ks, 5. Bystrice pod Hostýnem (Zlínský kraj) – 5 ks, 6. Valašské Meziříčí (Zlínský kraj) – 4 ks, 7. Nový Jičín (Moravskoslezský kraj) – 4 ks, 8. Koprivnice (Moravskoslezský kraj) – 13 ks, 9. Příbor (Moravskoslezský kraj) – 2 ks, 10. Hukvaldy (Moravskoslezský kraj) – 1 ks, 11. Rožnov pod Radhoštěm (Moravskoslezský kraj) – 4 ks, 12. Zákopčín (Zlínský kraj) – 5 ks, 13. Český Těšín (Moravskoslezský kraj) – 1 ks

byla měřena fluorescenčně s barvivem PicoGreen (kalibrovaným spektrofotometricky) a kvalita DNA byla vyhodnocena elektroforézou na 2% agarózovém gelu po obarvení ethidium bromidem.

Izolace DNA z bezinek

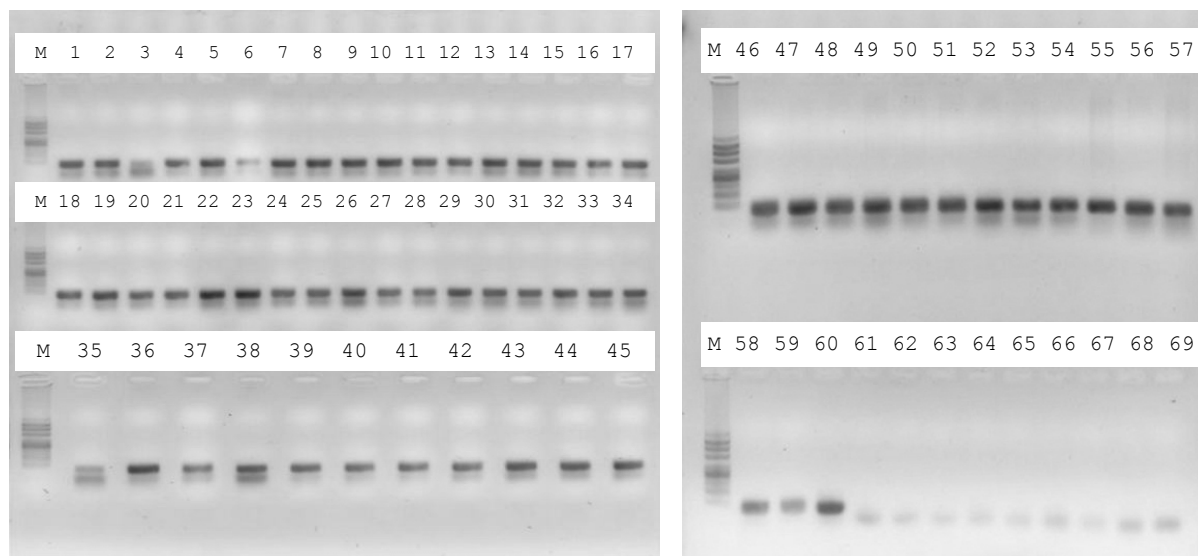
Pět zmražených plodů bezu – bezinek ($\pm 0,5$ g) bylo rozdrceno pipetovací špičkou ve zkumavce. Tekutá část byla odpipetována za přídavku 10 μ l lineárního polyakrylamidu¹³. Obě části byly lyzovány komerčním pufrém DNAzol (Invitrogen) obsahujícím guanidin isothiokyanát (GuSCN) (cit.¹⁴) a extrahovány chloroformem podle firmního návodu.

Izolace DNA z vína přibarveného bezinkami

Zmražené bezinky byly rozdrceny tloučkem v porcelánové misce. K 20 ml vína Veltlínské zelené (Igristoe CZ) bylo přidáno 3,7 g rozdrcených bezinek (nebo 3,3 ml bezinkové šťávy) a 10 μ l lineárního polyakrylamidu. Pevné částice byly vysráženy 20 ml isopropanolu. DNA ze sedimentu byla extrahována GuSCN a dvakrát chloroformem, potom vysrážena isopropanolem. Po přečištění 80% ethanolem byl precipitát rozpuštěn ve 100 μ l 10 mM TrisCl-EDTA pH 8.

Design PCR primerů

Primery byly navrženy pro vnitřní přepisovanou sekvenci (Internal Transcribed Sequence, ITS) v rRNA podle sekvence U88204 z databáze GenBank pomocí programu Primer3 (cit.¹⁵). Primer ve směru transkripce měl sekvenci 5'-AAA CCT GCA CAG CAG AAT GAC-3', primer proti směru transkripce sekvenci 5'-CGC TCT TCA GTA AAA ATT CCT TG-3'.



Obr. 3. Testování specifčnosti PCR: detekce na agarozové elektroforéze; M: délkový standard (proužek nejbližší amplikonu odpovídá 200 bp); č.1–60: amplikony DNA bezu černého ze stanovišť podle obr. 2; č.61–69: negativní kontroly, 61 – virus výrustkové mozaiky hrachu, 62 – *Saccharomyces cerevisiae*, 63 – bakteriofág lambda, 64 – *Vitis vinifera* odrůda Zweigeltrebe, 65 – *Vitis vinifera* odrůda Svatovavřínecké, 66 – *Vitis vinifera* odrůda Frankovka, 67 – *Vitis vinifera* odrůda Pinot noir, 68 – *Vitis vinifera* odrůda Portugalské modré, 69 – amplifikace bez templátu

Před syntézou byly sekvence primerů překontrolovány programem BLAST (cit.¹⁶), zda-li se nemohou teoreticky vázat i na templátovou DNA jiných organismů a poskytnout tak nespecifické amplikony.

Testování specificity PCR *in vitro*

Polymerázová řetězová reakce proběhla v cykléru Biometra Gradient, v pufru TopBio Taq s těmito komponentami: 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTPs, 1,67 mU μl⁻¹ Taq, 0,2 mg μl⁻¹ BSA, 1 μM primerů (sekvence viz výše), 0,1 % Triton X-100. Parametry cykléru byly: 95 °C 5 min, (96 °C 10 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s)×45. Do reakčního roztoku bylo přidáno po 5 ng DNA z 56 stanovišť bezu černého (60 vzorků) a 9 negativních kontrol (virová, révo-ová, kvasinková DNA a voda, viz obr. 3).

Testování citlivosti PCR *in vitro*

Citlivost PCR byla testována v reálném čase v optickém kanálu FAM (gain 9,3) cykléru Rotor-Gene 3000 (Corbett Research) ve stejné reakční směsi a při stejných parametrech jako při testování specificity, ovšem s přidávkem 0,005% fluorescenčního DNA interkalátoru SYBR® Green I (cit.¹⁷). Při analýze byl využit firemní software Rotor-Gene 6.0.23 s těmito hodnotami nastavení: prahová hodnota 0,41, levá prahová hodnota 1, začátek standardní normalizace prvním cyklem, nepřítomnost korekce šumu a prahu reakční účinnosti, lehký digitální filtr a 10% prahová hodnota pro negativní kontrolu bez templátu. Měřením fluorescence v průběhu PCR u řady s rozdílnými koncentracemi DNA jsme sestrojili křivku závislosti růstu fluorescence na počtu cyklů PCR a extrapolací zjistili počáteční koncentraci templátové DNA

v testovaných vzorcích. Po PCR jsme otestovali teplotu tání amplikonu (stoupání od 72 °C na 99 °C při rychlosti 0,1 °C s⁻¹ při kontinuálním měření ve FAM kanálu).

Výsledky a diskuse

Isolovali jsme: a) DNA bezu černého (*Sambucus nigra*) z listů, získaných z 13 moravských obcí (56 stanovišť, 60 vzorků) s fluorimetricky zjištěným výtěžkem 66,3 ± 52,5 ng DNA kroužek listu⁻¹, b) DNA bezu černého z bezinek (69 ± 13 μg DNA g⁻¹) a bezinkové šťávy (41 ± 19 μg DNA g⁻¹).

Při zkoumání uměle přibarveného vína jsme nenalezli významný rozdíl ve výtěžku DNA *Sambucus nigra* z vína uměle přibarveného bezinkami (fluorimetricky 2,78 ± 0,138 μg DNA g⁻¹ bezinek, pomocí qPCR 1,97 ± 0,75 μg DNA g⁻¹ bezinek) a bezinkovou šťávou (fluorimetricky 2,81 ± 1,328 μg DNA g⁻¹ bezinkové šťávy, pomocí qPCR 1,24 ± 0,67 μg DNA g⁻¹ bezinkové šťávy), takže je naše metoda použitelná na obě alternativy falšování.

Navrhli jsme PCR primery, specifické pro ITS sekvenci *Sambucus nigra*, které poskytují amplikon o délce 160 bp. Zatímco primer po směru transkripce má širší specificitu (při hodnotě očekávání náhodné shody s danou databází E=0,01 jej bylo možno přiložit k sekvencím mnohých dvouděložných rostlin), primer proti směru transkripce je specifický jen pro rod *Sambucus* (tab. II).

Do vína se může potenciálně dostat DNA organismů, které se přirozeně na hroznech vyskytují už ve vinohradu (*Kloeckera apiculata*, *Candida stellata*, *Brettanomyces*, *Candida*, *Debaryomyces*, *Hansenula*, *Kluyveromyces*, *Metschnikowia*, *Nadsonia*, *Pichia*, *Oidium*, *Vitius vitifolii*/

Tabulka II

Výsledek BLAST analýzy pro zpětný primer s hodnotou očekávání náhodné shody s danou databází E nižší než 0,001

Označení sekvence v databázi GenBank	Druh
gi 33299973 gb AY236171.1 gi 33087025 gb AY265158.1 gi 1850577 gb U88207.1 SRU88207	<i>Sambucus racemosa</i>
gi 2226018 gb U88558.1 U88558	<i>Sambucus sieboldiana</i>
gi 1850576 gb U88206.1 SPU88206	<i>Sambucus pubens</i>
gi 1850575 gb U88205.1 SPU88205	<i>Sambucus peruviana</i>
gi 1850574 gb U88204.1 SNU88204	<i>Sambucus nigra</i>
gi 1850573 gb U88203.1 SMU88203	<i>Sambucus melanocarpa</i>
gi 1850572 gb U88202.1 SMU88202	<i>Sambucus maderensis</i>
gi 1850569 gb U88199.1 SCU88199 gi 33087024 gb AY265157.1	<i>Sambucus canadensis</i>
gi 1850568 gb U88198.1 SCU88198	<i>Sambucus callicarpa</i>
gi 1850567 gb U88197.1 SCU88197	<i>Sambucus caerulea</i>
gi 1850566 gb U88196.1 SAU88196	<i>Sambucus australis</i>
gi 1825461 gb U41382.1 SGU41382	<i>Sambucus gaudichaudiana</i>

Daktulosphaira vitifoliae, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Penicillium*, *Plasmopara*, *Uncinula*) a DNA organismů, podílejících se na vinifikaci (*S. cerevisiae*, *S. bayanus*, *S. pastorianus*, *S. uvarum* při kvašení, *Quercus bulba* a *Quercus robur* při barikování, *Huso huso* z vyziny, *Galus gallus f. domestica* z bílku nebo *Bos primigenius f. taurus* z kaseinu při číření). Přirozenou cestou se DNA dvouděložných rostlin mezi hrozny při přípravě vína nedostane, proto můžeme teoretickou specifíčnost našich primerů považovat za dostačující. Navíc i jediný primer z páru může zabezpečit specifitu PCR reakce při dostatečně stringentní teplotě nasedání primeru. Výsledky *in silico* BLAST analýzy jsme testovali *in vitro* na naší testovací sadě vzorků. Všechny vzorky rodu *Sambucus*, které byly sbírány bez odborného taxonomického dohledu a nemusely proto nutně být druhu *Sambucus nigra*, byly úspěšně amplifikovány, což potvrzuje robustnost metody. Zároveň žádná z negativních kontrol nebyla amplifikována (obr. 3).

Pomocí kvantitativní PCR s interkalátorem SYBR-Green I, kalibrované spektrofotometricky, jsme byli schopni detegovat 60 pg bezové DNA na PCR reakci, což odpovídá dvojnásobku diploidního bezového genomu (2C = 30,5 pg) nebo 1/3000 bezinky¹⁸. Citlivost je takto vysoká, protože cílová sekvence ITS1 se nachází v bezovém genomu ve stovkách, ne-li v tisících kopiích¹⁹. Specifíčnost namnožení cílové sekvence byla dále ověřena shodou experimentálně zjištěné teploty tání amplikonu (86,5 ± 0,5 °C) s teoretickou hodnotou (87 °C), vypočtené programem OligoCalculator (<http://www.basic.northwestern.edu/biotools/oligo.html>, přístup online 24.7.2006).

Pro zjištění, nakolik naše citlivost koresponduje s množstvím bezinkové DNA v přibarvovaném víně, jsme provedli simulační pokus „přeměny“ bílého vína na červené. Potřebovali jsme více než 1000 bezinek (107 g), aby se barva Veltlínského zeleného vína (Igristoe CZ; 0,7 l) přiblížila barvě Svatovavříneckého. Tyto pokusy jsme provedli jen zrakovým srovnáním přibarvovaného bílého vína pro získání orientační hodnoty cílové citlivosti detekční metody. O větší přesnost jsme se nesnažili, protože ani přesné stanovení XYZ tristimulu podle kolorimetrického standardu Commission Internationale de l'Éclairage²⁰ nepostihuje subjektivní faktor vnímání barvy. Jiný simulační pokus Bridleho⁴ dosáhl znatelného vylepšení barvy červeného vína přidáním 280 bezinek (30 g) do 700 ml láhve vína. Dosažená citlivost qPCR je proto dostačující a plně srovnatelná se současnými chromatografickými metodami^{4,7}. Navíc naše metoda testuje DNA místo anthokyaninů a může proto sloužit jako nezávislá kontrola chromatografických výsledků.

Pro ověření použitelnosti metody na reálných vzorcích jsme testovali přítomnost bezové DNA v podezřelém sudovém víně. Výsledky byly negativní (data neuvedena). Je možné, že toto víno bylo přibarveno synteticky, a proto rozšiřujeme soubor vzorků k testování.

Závěr

Vyvinuli jsme qPCR metodu detekce nepovoleného přibarvení červeného vína bezinkami druhů rodu *Sambucus* s limitem citlivosti odpovídajícím dvojnásobku bezového genomu. Naše metoda je dostatečně citlivá pro praktické využití a zároveň postavená na jiném principu než současné chromatografické metody²¹, a proto může sloužit i pro kontrolní účely České obchodní inspekce. Naše namátkové testování levných červených vín však bylo negativní. Je možné, že nepoctiví vinaři přibarvují spíše syntetickou trestí (dříve se používal kancerogenní a hemolytický azorubin a briliantní modř²²), než netoxickými bezinkami.

Práce byla provedena za přispění grantu IK04104 MŠMT.

LITERATURA

1. Drábek J., Bednář P.: Vin. Obzor 6, 280 (2004).
2. Boulton R.: Am. J. Enol. Vitic. 52, 67 (2001).
3. Čopíková J., Uher M., Lapčík O., Moravcová J., Drašar P.: Chem. Listy 99, 802 (2005).
4. Bridle P., GarciaViguera C.: Food Chem. 55, 111 (1996).
5. Miyamoto F., Saeki M., Kamijo M., Kanda H., Nakaoka T., Nishijima M., Ito Y., Takeshita R.: Eisei Kagaku-Jpn. J. Toxicol. Environ. Health 37, 542 (1991).
6. Chandra A., Rana J., Li Y.: J. Agric. Food Chem. 49, 3515 (2001).
7. Garcia-Beneytez E., Cabello F., Revilla E.: J. Agric. Food Chem. 51, 5622 (2003).
8. Bednář P., Papoušková B., Muller L., Barták P., Stávek J., Pavloušek P., Lemr K.: J. Sep. Sci. 28, 1291 (2005).
9. Ishikawa F., Oishi M., Kimura K., Yasui A., Saito K.: J. Food. Hyg. Soc. Jpn. 45, 150 (2004).
10. Mazzuca P., Ferranti P., Picariello G., Chianese L., Addeo F.: J. Mass Spectrom. 40, 83 (2005).
11. Castellarin S. D., Di Gaspero G., Marconi R., Nonis A., Peterlunger E., Paillard S., Adam-Blondon A. F., Testolin R.: BMC. Genomics 7, 12 (2006).
12. Puchooa D.: Afr. J. Biotechnol. 3, 253 (2004).
13. Lefort F., Douglas G. C.: Ann. Forest Sci. 56, 259 (1999).
14. Gaillard C., Strauss F.: Nucleic Acids Res. 18, 378 (1990).
15. Chomczynski P., Mackey K., Drews R., Wilfinger W.: Biotechniques 22, 550 (1997).
16. Rozen S., Skaletsky H.: Methods Mol. Biol. 132, 365 (2000).
17. Altschul S. F., Gish W., Miller W., Myers E. W., Lipman D. J.: J. Mol. Biol. 215, 403 (1990).

18. Rasmussen R., Morrison T., Herrmann M., Wittwer C.: *Biochemica* 2, 8 (1998).
19. Bennett M. D., Leitch I. J.: *Ann. Bot. (Lond)* 95, 45 (2005).
20. Prokopowich C. D., Gregory T. R., Crease T. J.: *Genome* 46, 48 (2003).
21. Stávek J.: *Vin. Obzor* 4, 178 (2006).
22. Nakajima J., Tanaka I., Seo S., Yamazaki M., Saito K.: *J. Biomed. Biotechnol.* 241 (2004).
23. De Villiers A., Alberts F., Lynen F., Crouch A., Sandra P.: *Chromatographia* 58, 393 (2003).

J. Drábek, M. Jalůvková, and I. Frébort (*Faculty of Science, Palacký University Olomouc*): **Quantitative PCR Determination of Elderberries (*Sambucus nigra*), an Illegal Additive to Wine**

Low colour in red wine decreases its price on the market. Therefore, illegal winemakers adulterate wine by adding elderberries (*Sambucus nigra*), a natural colouring additive. Elderberries contain anthocyanines which also occur in red wine. Given the dynamic nature of the anthocyanine content in wine, it is sometimes difficult to distinguish wine and elderberry anthocyanines by chromatographic methods. We describe a sensitive quantitative PCR method of determination of elderberries based on amplification of internal transcribed sequence. Our method addresses a different target than traditional chromatography, DNA instead of anthocyanines, and hence can serve as a complementary method.

VŠCHT Praha přijme technika/laboranta/ku na Ústav organické chemie.

Požadovaný profil vhodného uchazeče:

- středoškolské vzdělání chemického směru,
- praxe v oboru výhodou.

Nabízíme:

- samostatnou práci na špičkovém pracovišti,
- příležitost k profesnímu rozvoji,
- pracoviště v blízkosti metra,
- pružnou pracovní dobu,
- příspěvek na stravování, návštěvu kulturních a sportovních zařízení, rekreaci, penzijní připojištění.

Nástup: 1. 9. 2007

Kontakt: Jana Kosařová, tel. 220444164, jana.kosarova@vscht.cz
prof. Ing. Pavel Lhoták, CSc., tel. 220445055, pavel.lhotak@vscht.cz

STUDIUM VLIVU SACHAROSY A POLYETHYLENGLYKOLU NA PRODUKCI HYPERICINU A HYPERFORINU V ROSTLINÁCH *Hypericum perforatum* L. VYSOKO- ÚČINNNOU KAPALINOVOU CHROMATOGRAPHIÍ

MICHAL PAVLÍK^a, JAN VACEK^b, BOŘIVOJ
KLEJDUS^c a VLASTIMIL KUBÁŇ^c

^a Ústav přírodních léčiv, Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně, Palackého 1–3, 612 42 Brno, ^b Biofyzikální ústav, Akademie věd České republiky, Královopolská 135, 612 65 Brno, ^c Ústav chemie a biochemie, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno
kuban@mendelu.cz

Došlo 22.5.06, přepracováno 6.11.06, přijato 5.1.07.

Klíčová slova: hypericin, hyperforin, chromatografie, HPLC, UV-Vis, třezalka tečkovaná, *Hypericum perforatum* L.

Úvod

Třezalka tečkovaná (*Hypericum perforatum* L.) obsahuje spektrum biologicky aktivních látek, jako jsou naftodianthrony, florigluciny, flavonoidy, taniny, fenypropyly, xanthony a další¹. Většinou jde o sekundární metabolity, které vykazují stimulační nebo inhibiční účinek na fyziologické procesy. Toto zjištění vedlo v minulosti k využívání extraktů z *H. perforatum* v tradiční lidové medicíně. S rozvojem farmakologie a farmakochemických oborů byly účinné látky izolovány a začaly se využívat i v klasické humánní medicíně. Zároveň byl objasněn fyziologický účinek těchto látek na molekulární úrovni.

Farmakopreparáty připravené z extraktů *H. perforatum* se podávají při léčbě depresivních stavů a představují alternativu k syntetickým antidepresivům. Účinné látky obsažené v extraktech třezalky jsou schopny (i) obecně inhibovat metabolismus neurotransmiterů, (ii) modulovat citlivost neurotransmiterů a (iii) inhibovat synaptický transport mediátorů nervového signálu, jako je serotonin, noradrenalin a dopamin^{1,2}.

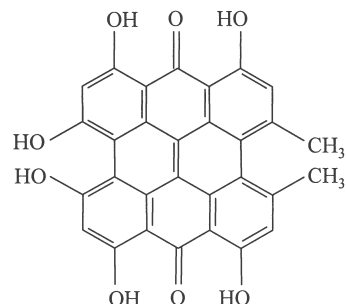
Předmětem našeho zájmu je hypericin – derivát naftodianthronu (obr. 1a) a hyperforin – derivát fluorogluciny (obr. 1b). Obě látky jsou přítomny v extraktech *H. perforatum* a představují hlavní aktivní komponenty s antidepresivním účinkem. O biochemické podstatě antidepresivního účinku hypericinu a hyperforinu doposud není

příliš mnoho známo. Při vyšších dávkách hypericinu byla prokázána schopnost inhibice monoaminoxidas³. V literatuře je také popsána afinita hypericinu k σ -opioidním receptorům¹. Hyperforin je zastoupen v rostlinách třezalky ve vyšších koncentracích než hypericin. Má významný účinek na serotoninový, noradrenalinový, dopaminový a opioidní systém živočichů, včetně člověka. Mezi popsané mechanismy *in vitro* patří (i) antagonismus ke spasmogenním účinkům, (ii) antagonismus ke kontrakcím tenkého střeva řízeným serotoninem a (iii) inhibice transportu serotoninu³.

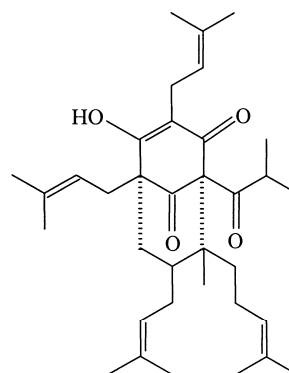
U 10 ze 13 klinických studií byl pozorován vyšší antidepresivní účinek u extraktu z třezalky ve srovnání s podaným placebem a v některých případech dokonce i vyšší než u antidepresiv Elavil, Prozac, Tofranil nebo Zoloft³. Ukazuje se, že extrakty z třezalky mohou plnit funkci účinného doplňku k běžně používaným léčivům depresivních stavů.

Cíle této práce jsou: (i) optimalizovat metodu kapalinové chromatografie s UV-Vis detekcí k rychlému a citlivému stanovení hypericinu a hyperforinu v prýtech *H. perforatum* a (ii) stimulovat rostliny pěstované *in vitro* ke zvýšené produkci obou látek účinkem sacharosy a polyethylenglykolu (HO-[CH₂-CH₂-O]_n-H) a poukázat tak na

a



b



Obr. 1. Strukturální vzorce (a) hypericinu a (b) hyperforinu

variabilní obsah hypericinu a hyperforinu v závislosti na podmínkách růstu rostlin třezalky.

Materiál a metody

Rostlinný materiál

K experimentům byly použity rostliny *Hypericum perforatum* L. var. Topas, vypěstované ze semen. Semena byla sesbírána v roce 2000 v Zahradě léčivých rostlin LF MU Brno. Semena byla promývána roztokem detergentu (Jar, Procter&Gamble – Rakona, Rakovník, Česká republika) ve zkumavkách po dobu 60 min. Po slití roztoku detergentu a opláchnutí destilovanou vodou byla semena desinfikována 15% roztokem Sava (obsah chlornanu sodného max. 5 %, Bochemie, Bohumín, Česká republika) po dobu 20 min. Semena byla následně desetkrát opláchnuta ve sterilní destilované vodě a očkována na kultivační půdu k naklíčení (13 dní). Veškeré operace byly prováděny v aseptickém boxu Fatran LF (Chirana, Brno, Česká republika).

Kultivační médium

V experimentech bylo použito komerčně dostupné 50% kultivační médium Murashige-Skoog (MS) (cit.⁴) o koncentraci 2,151 g dm⁻³ s doplňkem glycinu (2 mg dm⁻³), myo-inositolu (100 mg dm⁻³), nikotinové kyseliny (0,5 mg dm⁻³), hydrochloridu pyridoxinu (0,5 mg dm⁻³) a hydrochloridu thiaminu (0,1 mg dm⁻³), zpevněné Gelritem 3,0 g dm⁻³ (vše Duchefa, Haarlem, Nizozemí). Složky kultivačního média byly míchány na elektromagnetické míchače ve zvoleném množství destilované vody až do rozpuštění. Poté byly homogenním kultivačním médiem (75 ml) naplněny infúzní lahve (0,5 l), které byly následně uzavřeny alobalem. Kultivační médium a pracovní nástroje byly sterilizovány v autoklávu (typ AUT 26/2, Chirana, Brno, Česká republika) při teplotě 121 °C a přetlaku 110 kPa po dobu 20 min. Veškeré manipulace vyžadující sterilní prostředí byly prováděny v aseptickém boxu Fatran LF (Chirana, Brno, Česká republika).

Kultivační podmínky

Rostliny byly kultivovány ve sterilních podmínkách v kultivačním osvětlovacím boxu MIR Sanyo (Schoeller, Německo) při teplotě 22±4 °C a při světelné periodě 16/8 h (světlo/tma). Zdrojem světla byly žárovky Osram L36W/77 Fluora (Osram, München, Německo) s maximální intenzitou záření v rozmezí $\lambda = 400\text{--}500$ nm a 600–700 nm a méně výrazným maximem při $\lambda = 550$ nm. Tyto žárovky simulují přirozené světlo se současným posílením vlnových délek v červené a modré oblasti.

Po naklíčení byly malé rostlinky přeneseny do infúzních lahví na udržovací půdu (MS 50 %, vitamíny 100 %, sacharosa 10 g dm⁻³, gibberelová kyselina 75 $\mu\text{g dm}^{-3}$ a Gelrite

0,25 %) a pěstovány 15 dnů do velikosti asi 3 až 4 cm v kultivačním osvětlovacím boxu.

Kultivace rostlin na médiu s přidavkem sacharosu (p.a., Pliva-Lachema, Brno, Česká republika) v koncentracích 10, 20 a 30 g dm⁻³ a polyethylenglykolu 6000 (PEG, Fluka, Buchs, Švýcarsko) v koncentracích 1,25; 2,5; 5; 10 a 15 g dm⁻³ probíhala 21 dní za výše uvedených podmínek. Uvedeným koncentracím sacharosu a PEG byly vystaveny rostliny pěstované na udržovací půdě.

Odběr vzorků

Po ukončení kultivace byla provedena fotodokumentace (Olympus C-4040 ZOOM, Olympus, Tokyo, Japan). Celé prýty byly vždy odebrány ze všech rostlin v jedné infúzní lahvi. Od každé varianty byly odebrány tři vzorky. Vzorky byly zváženy a ihned vloženy do plastových zkumavek, zmrazeny kapalným dusíkem a uchovávány v mrazicím boxu při konstantní teplotě –80 °C. Před stanovením obsahu hypericinu a hyperforinu metodou HPLC byly všechny vzorky lyofilizovány v lyofilizátoru Christ Alpha 1-2 B (Braun Biotech Internat., Osterode, Německo) a homogenizovány mletím v kapalném dusíku (Vibrom 2S, Jebavý, Třeběchovice p. O., Česká republika). Gravimetricky byl stanoven obsah vody v zařízení na stanovení vlhkosti MA 30 (Sartorius, Goettingen, Německo).

Homogenizované vzorky (20 mg) byly extrahovány 40 ml 80% (v/v) ethanolu (teplotní program: 1. stupeň: teplota chladicího/ohřívacího bloku 150 °C po 30 min, ochlazení chladicího/ohřívacího bloku na 30 °C po 5 min; 2. stupeň: teplota chladicího/ohřívacího bloku 140 °C po 30 min, ochlazení chladicího/ohřívacího bloku na 30 °C na 5 min) v modifikovaném Soxhletě přístroji “fex Ika Werke 50“ (IKA-Werke, Staufen, Německo). Před nástřikem vzorku do HPLC systému byl získaný extrakt filtrován nylonovým membránovým filtrem (0,45 μm , 13 mm průměr, Alltech Associates, Doerfield, USA).

Chemikálie pro analýzu

Acetonitril (ACN) pro HPLC a octan amonný (AcNH₄) byly dodány firmou Merck (Darmstadt, Německo). Hypericin, hyperforin a další chemikálie ACS (American Chemical Standard) čistoty byly od firmy Sigma Aldrich (St. Louis, USA). Zásobní roztoky hypericinu (40 $\mu\text{g dm}^{-3}$) a hyperforinu (100 $\mu\text{g dm}^{-3}$) v methanolu byly použity pro optimalizaci a kalibraci metody a byly uchovávány ve tmě při 4 °C. Všechny roztoky použité pro HPLC byly filtrovány 0,45 μm teflonovými membránovými filtry (MetaChem, Torrance, USA).

Chromatografie

HP 1100 chromatografický systém (Hewlett-Packard, Waldbronn, Německo) vybavený vakuovým odplynovacím modulem (G1322A), pumpami (G1312A), automatic-

kým dávkovačem vzorků (G1313A), termostatem kolon (G1316A) a UV-Vis detektorem s diodovým polem (G1315A) byl řízen programem ChemStation (Rev. A07.01). Hypericin a hyperforin byly separovány lineární gradientovou elucí na koloně s reverzní fází Zorbax SB-CN (75 mm × 4,6 mm, velikost částic 3,5 μm, Agilent, Palo Alto, USA) mobilní fází acetonitril a 0,01 mol dm⁻³ octan amonný (% v/v: 0 min 50/50, 5 min 100/0, 8 min 100/0, 10 min 50/50) při průtokové rychlosti mobilní fáze 0,8 ml min⁻¹ a teplotě termostatu kolon 35 °C.

Výsledky a diskuse

Chromatografické stanovení hypericinu a hyperforinu

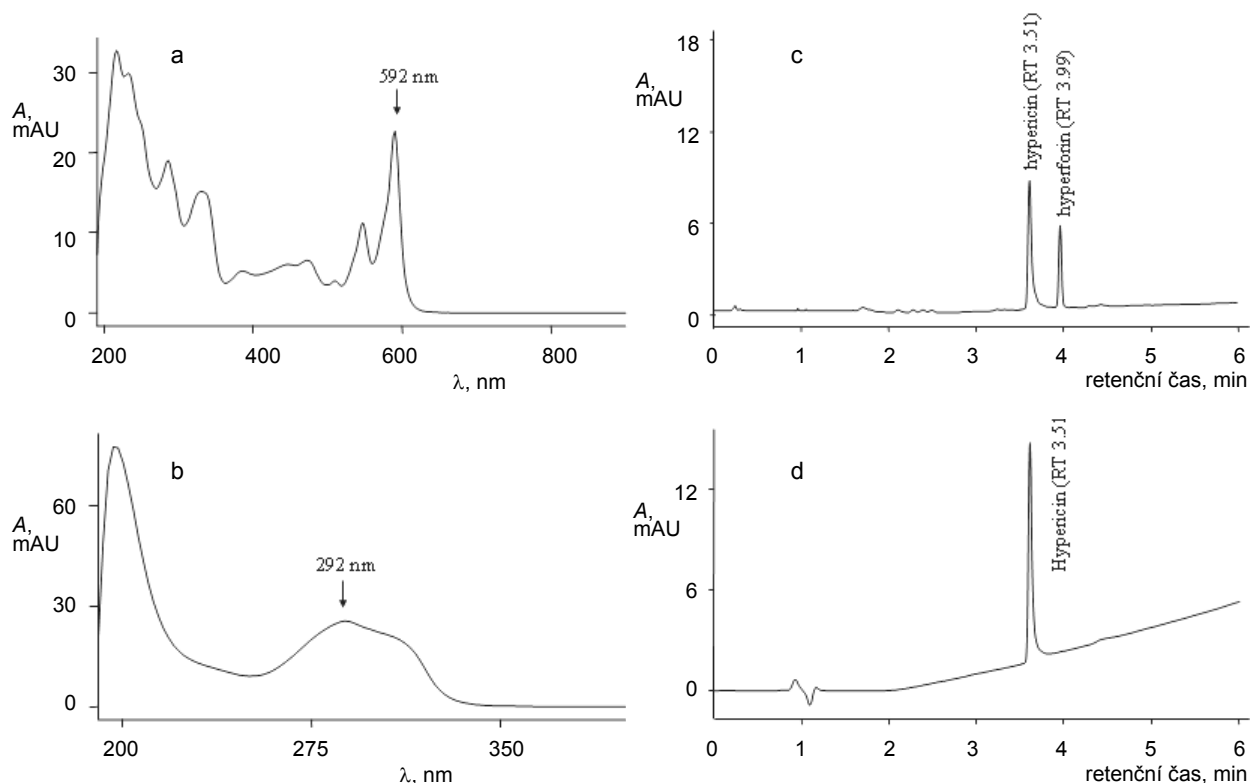
Extrakce hypericinu a hyperforinu z lyofilizovaných vzorků rostlinného materiálu byla prováděna 80% ethanol v modifikovaném Soxhletově přístroji. Extrahovat lze i jinými technikami, např. v destilační aparatuře se zpětným chladičem, ultrazvukem nebo komerčně dostupnými extraktory^{4,5}. Vzorky po extrakci nebo jiné manipulaci je vhodné ihned podrobit analýze, jelikož časem mohou obě

látky podléhat degradaci nebo oxidaci, především následkem extrémních hodnot pH a vysokých teplot⁵.

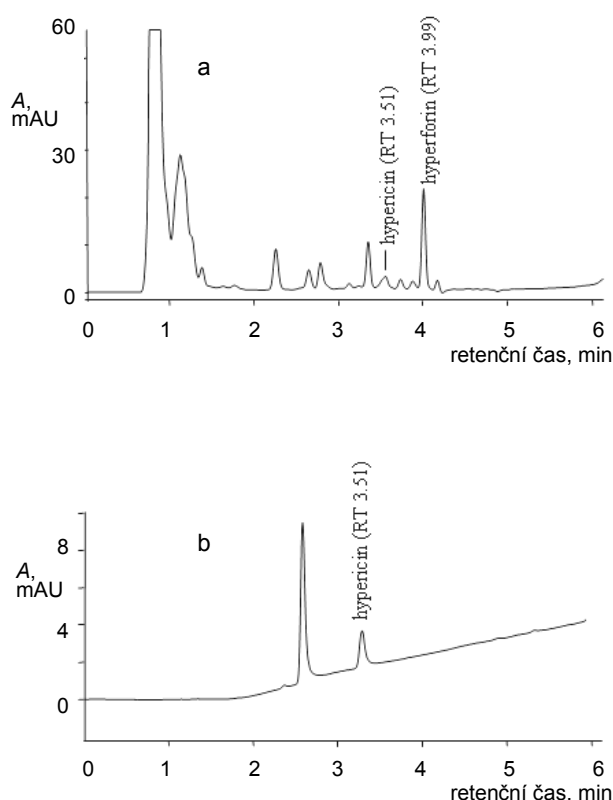
Vysokoučinná kapalinová chromatografie ve spojení s UV-Vis spektrofotometrickým⁶, fluorescenčním⁷, hmotnostním^{5,8} nebo elektrochemickým⁹ detektorem patří vedle klasické spektrofotometrie k nejrozšířenějším metodám pro stanovení hypericinu a hyperforinu. Pro separaci hypericinu z extraktů *H. perforatum* je možné využít izokratickou eluci¹⁰. Při gradientové eluci se obvykle používá jako nepolární organické rozpouštědlo acetonitril v kombinaci s vodnou fází obsahující slabé kyseliny (octová kyselina, trifluorooctová kyselina), jejich sole nebo směsi slabé kyseliny a její soli^{5,7,11}.

HPLC s detektorem s diodovým polem (DAD) byla použita pro stanovení hypericinu, hyperforinu a řady dalších komponent extraktu z *H. perforatum* při vlnové délce 270 a 590 nm (cit.¹¹). Kromě hypericinu (retenční čas (RT): 49,9 min) a hyperforinu (RT: 35,9 min) bylo možné při 270 nm stanovit pseudohypericin, kvercetin, rutin, hyperosid a další. Bauer a spol.¹⁰ použili kolony s reverzní fází umožňující separaci s retenčním časem 3,8 min pro hypericin a 6,8 min pro hyperforin.

V našem případě jsme pro rychlé (chromatografie s retenčními časy do 4 min) a citlivé stanovení hypericinu a hyperforinu využili metodou HPLC-UV-Vis DAD s gra-



Obr. 2. Absorpční spektra (a) hypericinu, (b) hyperforinu a chromatogram směsi hypericinu a hyperforinu snímáný UV-vis detektorem při vlnové délce 292 nm (c) a 592 nm (d); koncentrace hypericinu a hyperforinu 20 ng/nástrík, chromatografické podmínky viz kapitola „Chromatografie“



Obr. 3. Chromatogram hypericinu a hyperforinu reálných vzorků po Soxhletově extrakci při (a) 292 a (b) 592 nm; chromatografické podmínky viz kapitolu „Chromatografie“

dientovou elucí acetonitrilem a 0,01 mol dm⁻³ octanem amonným s detekcí při 592 nm pro hypericin a při 292 nm pro hyperforin (obr. 2a,b). Za daných experimentálních podmínek (viz výše) byly při koncentraci 20 ng hypericinu a hyperforinu na nástřík (5 μl) a při vlnové délce 292 nm absorpčního maxima hyperforinu (obr. 2b) detegovány dva dobře vyvinuté chromatografické píky (obr. 2c) v retenčních časech 3,51 a 3,99 min, neboť při této vlnové délce absorbuje i hypericin (obr. 2a). Obě látky tak lze analyzovat současně, nicméně vyšších signálů u hypericinu se dá dosáhnout sledováním absorbance při 592 nm (obr. 2d). Chromatogramy extraktů *H. perforatum* získané při různých vlnových délkách detekce jsou znázorněny na obr. 3.

Kalibrační závislosti byly lineární v koncentračním rozsahu 20–200 ng/nástřík (5 μl) hypericinu a hyperforinu s korelačními koeficienty $R^2 > 0,999$. Meze detekce (LOD pro 3 S/N kritérium) byly 90 pg/nástřík pro hypericin při 592 nm a 270 pg/nástřík pro hyperforin detegovaný při 292 nm.

Vliv sacharosu a PEG na morfologii a vzhled *H. perforatum*

Rostliny *H. perforatum* byly pěstovány na 50% MS kultivačním médiu po dobu 15 dnů. Získané semenáčky byly přeneseny do média s různými přídávky sacharosu a PEG. Po 21 dnech kultivace byly sledovány morfologické změny, obsah vody a koncentrace hypericinu a hyperforinu v prýtech experimentálních rostlin.

Pro sacharosu byly použity koncentrace 10, 20 a 30 g dm⁻³ kultivačního média. S rostoucí koncentrací sacharosu v médiu se zřetelně snižoval vzrůst a počet pater, zkracovala se internodia, a objevilo se červení listů a stonků a nepříliš zřetelné zmenšování listové plochy (obr. 4). Červení listů se poprvé objevovalo při koncentraci sacharosu 20 g dm⁻³. I zde však bylo málo zřetelné a objevovalo se pouze v nejspodnějších částech rostlin. Lodyhy byly v dolní části narůžovělé. Při koncentraci sacharosu 30 g dm⁻³ bylo červené zbarvení rostlin již zřetelnější (někde až rudé) a zasahovalo místy i do vyšších částí rostlin.

Červení listů a stonků je pravděpodobně způsobeno hromaděním anthokyanů v pletivech. Jde o červená, modrá nebo fialová barviva, která jsou rozpustná ve vodě a částečně se podílejí na zbarvení květů a plodů a způsobují zbarvení listů a stonků. Pomáhají rostlině se vyrovnat se stresovými podmínkami vnějšího prostředí (syntéza anthokyanů se při osmotickém stresu zvyšuje). Patrně také snižují vodní potenciál v listech, čímž se zvyšuje příjem vody kořeny a omezuje se ztráta vody transpirací v listech¹².

V závislosti na množství PEG v médiu je u variant s koncentrací sacharosu 10 g dm⁻³ snižený dlouhý růst a počet pater. Některé části stonků i některé listy nekrotizují a červenají. Červení prakticky chybí při nejnižších koncentracích PEG (1,25 g dm⁻³) a začíná se objevovat teprve při vyšších koncentracích PEG (2,5 a 5 g dm⁻³). Se vzrůstající koncentrací PEG přibývá i nekroz. Mnohé listy jsou podélně tmavě žíhané. Kořeny jsou ve srovnání s kořeny kontrolních rostlin tenčí.

U variant s koncentrací sacharosu 20 g dm⁻³ se také redukuje dlouhý růst v závislosti na vzrůstající koncentraci PEG. Klesá rovněž počet pater a zmenšuje se listová čepel. Při koncentraci PEG 1,25 g dm⁻³ se již místy začíná objevovat červení stonků a listů – hlavně v dolních partiích rostliny. Se stoupající koncentrací PEG pak červení postupuje i do vyšších částí. Míra nekrotizace rovněž narůstá s koncentrací PEG. Kořeny jsou silnější než kořeny rostlin pěstovaných při koncentraci sacharosu 10 g dm⁻³.

Stejně jako v předchozích případech, i u variant s koncentrací sacharosu 30 g dm⁻³ se v závislosti na rostoucí koncentraci PEG snižuje vzrůst, klesá počet pater a zmenšuje se listová plocha. Červení i nekrozy stonků a listů přibývá v závislosti na množství PEG. Celkově je červení nejzřetelnější ve srovnání s variantami s množstvím sacharosu 10 a 20 g dm⁻³. Tloušťka kořenů je podobná jako u rostlin pěstovaných při koncentraci sacharosu 20 g dm⁻³.



Obr. 4. Rostliny třezalky tečkované (*Hypericum perforatum* L.) po 21 dnech pěstování na MS médiu s (A) 10, (B) 20 (C) 30 g dm⁻³ sacharosu a různými koncentracemi PEG; zleva: 0; 1,25; 2,5; 5; 10; 15 g dm⁻³

Souhrnně lze konstatovat, že míra červenání a nekrotizace se zvyšuje s rostoucí koncentrací PEG (snižuje se dlouhivý růst a zmenšuje se velikost listové čepele). U variant se stejnou koncentrací PEG jsou pak tyto projevy výraznější v závislosti na zvyšující se koncentraci sacharosu. Všeobecně se červenání listů a stonků objevuje při nižších koncentracích sacharosu a PEG než nekrózy listů a stonků (v závislosti na vzrůstající koncentraci sa-

charosu a PEG rostlinné části nejprve zčervenejí a potom teprve nekrotizují – viz obr. 4).

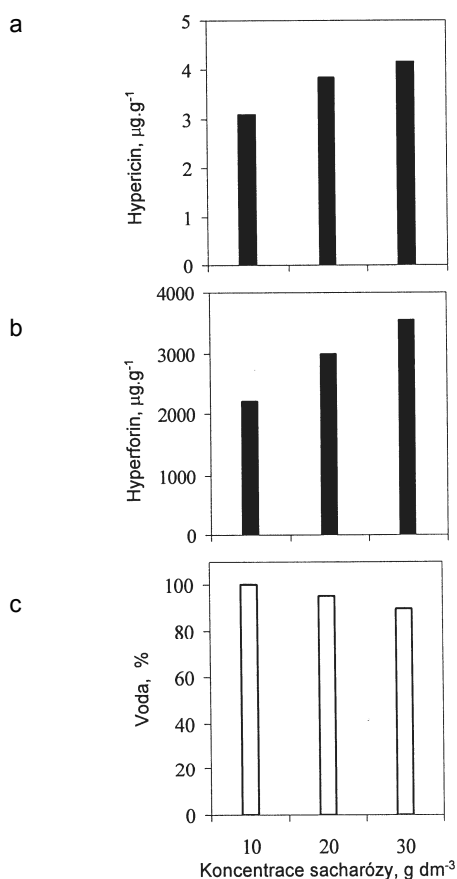
Vliv sacharosu a PEG na produkci hypericinu a hyperforinu

Přítomnost hypericinu a hyperforinu je u *H. perforatum* spojována s reakcí rostliny na abiotický stres a napadení patogenem. Rostliny třezalky je možné k produkci hypericinu a hyperforinu stimulovat aplikací chemických (jasmonová kyselina a methyl-jasmonát) i biotických (*Colletotrichum gloeosporioides*) stimulatorů^{13,14}. Hypericin a hyperforin, který rostliny produkují, je toxický pro celou řadu patogenů. Ze současných poznatků vyplývá, že přítomnost stresového faktoru může koncentraci hypericinu a hyperforinu v rostlinných buňkách výrazně ovlivnit.

U *H. perforatum* byl studován vliv chemických stimulatorů na produkci hypericinu, pseudohypericinu a hyperforinu po indukci různými koncentracemi (0–200 μmol dm⁻³) methyl-jasmonátu a salicylové kyseliny. Obě látky, v závislosti na koncentraci, pozitivně ovlivňují koncentraci hypericinu a hyperforinu v mladých rostlinách třezalky¹³. Kromě chemických stimulatorů nebo látek vyvolávajících stres ovlivňuje koncentraci hypericinu a hyperforinu také biotický stres. Ten může být způsoben různými patogeny nebo herbivorními škůdci^{13,15}.

V našich experimentech jsme studovali vliv jednoduchého cukru (sacharosu) a polymeru (polyethylenglykolu) na produkci hypericinu a hyperforinu. Koncentrace hypericinu a hyperforinu byla analyzována po 21 dnech kultivace. Se zvyšující se koncentrací sacharosu (10, 20 a 30 g dm⁻³) v kultivačním médiu se zvyšuje koncentrace hypericinu a hyperforinu v pletivu *H. perforatum*. U hypericinu byl pozorován nárůst koncentrace v pletivech třezalky ze 3 na 4 μg g⁻¹ (obr. 5a). Ve srovnání s naměřenými koncentracemi hypericinu byly u hyperforinu stanoveny koncentrace tisícinásobně vyšší. Rozdíl v obsahu hyperforinu u rostlin, které byly pěstovány v MS médiu s obsahem sacharosu 10 a 30 μg dm⁻³, činil cca 1500 μg g⁻¹ (obr. 5b). Se zvyšující se koncentrací sacharosu klesal obsah vody v pletivech kultivovaných rostlin (obr. 5c). Cukry (primárně sacharosa v koncentraci 20 g dm⁻³) byly součástí MS média pro pěstování třezalky¹³. Pro pěstování *Hypericum androsaemum* L. byla použita¹⁶ koncentrace sacharosu 30 g dm⁻³. Naše výsledky poukazují na skutečnost, že nebude možné srovnávat naměřené hodnoty obsahů hypericinu a hyperforinu u experimentů, ve kterých nebyla použita stejná koncentrace sacharosu v kultivačním médiu.

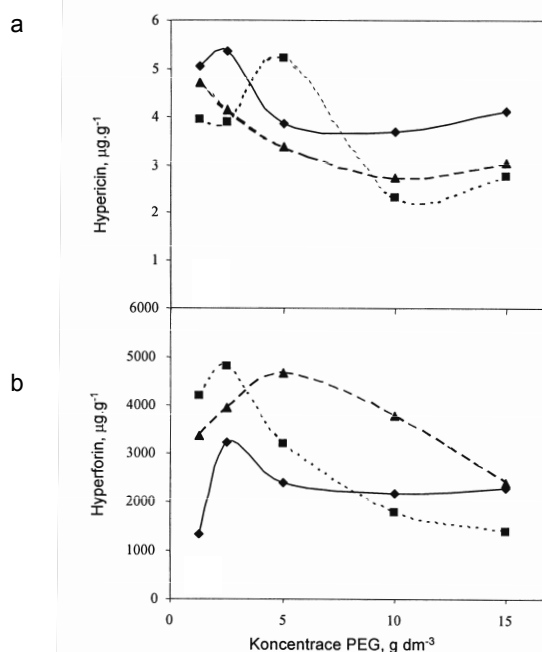
Dále byl studován vliv přídavku PEG (1,25; 2,5; 5; 10 a 15 g dm⁻³) k rostlinám, u kterých byla přítomna v kultivačním médiu sacharosa v koncentracích 10, 20 a 30 g dm⁻³. PEG má významný vliv na produkci hypericinu a hyperforinu, a to především v koncentračním rozsahu 2,5 až 5 g dm⁻³ a více (viz obr. 6). Jak u hypericinu, tak i u hyperforinu vykazovaly závislosti jejich obsahu na



Obr. 5. Vliv sacharózy na produkci (a) hypericinu, (b) hyperforinu v sušině a (c) obsah vody (w %) v prýtech *H. perforatum* po 21 dnech pěstování; počet opakování $n = 3$

koncentraci PEG maxima při aplikaci 2,5 nebo 5 g dm⁻³ PEG. Z výsledku vyplývá, že zvýšení produkce hypericinu a hyperforinu lze dosáhnout přidávkem nižších koncentrací PEG. Při vyšších koncentracích PEG se koncentrace obou látek v rostlinách *H. perforatum* snižuje nebo statisticky významně nemění. Obsah vody se v prýtech *H. perforatum* snižoval se zvyšující se koncentrací PEG v kultivačním médiu, podobně jako v případě samotné sacharózy. Tyto výsledky jsou v souladu s morfologickými změnami u rostlin *H. perforatum*.

Pokud by byl obsah hypericinu nebo hyperforinu sledován během několikaměsíčního pěstování (popř. u rostlin rostoucích v přírodních podmínkách), je třeba zohlednit vliv sezónních změn v koncentraci obou látek. U hypericinu bylo zjištěno, že se jeho koncentrace v průběhu roku prokazatelně mění¹⁷.



Obr. 6. Vliv polyethylenglykolu na produkci (a) hypericinu, (b) hyperforinu při různých koncentracích sacharózy; \diamond 10 g dm⁻³, \blacksquare 20 g dm⁻³, \blacktriangle 30 g dm⁻³ v kultivačním médiu po 21 dnech pěstování; počet opakování $n = 3$

Závěr

Postupy převzaté z tradiční medicíny mohou sloužit jako doplněk klasické medikamentózní léčby u celé řady onemocnění. Zajímavé efekty byly zjištěny v klinických studiích kontrolovaných placebem¹⁸, např. u preparátů z jinanu dvojlaločného (*Ginkgo biloba*) a náprstníku (*Digitalis*). V problematice využití *H. perforatum* ve fyto-medicině se ve větší míře výzkumné zájmy orientují ke studiu hyperforinu než hypericinu, jelikož hyperforin vykazuje výrazně vyšší účinek při potlačování depresivních symptomů než hypericin.

Znalosti o vlivech vnějších faktorů na produkci hypericinu a hyperforinu u *H. perforatum* jsou důležité pro standardizaci farmakopreparátů. Nové a snadno aplikovatelné metody analýzy farmaceuticky využívaných látek jsou velmi významné, jelikož většina účinných látek izolovaných z výše uvedených rostlin vykazuje kromě léčebného efektu i toxický účinek, popř. se léčebný efekt dostavuje pouze při určité koncentraci účinné látky v preparátu.

Námi dosažené výsledky poukazují na variabilitu koncentrace hypericinu a hyperforinu v závislosti na koncentraci sacharózy a PEG, kterým byly rostliny *H. perforatum* vystaveny v průběhu pěstování. Získané poznatky

bude možné využít v technologii pěstování *H. perforatum* pro farmaceutické účely a k detekci nízkých koncentrací hypericinů a hyperforinů.

LITERATURA

- Greeson J. M., Sanford B., Monti D. A.: *Psychopharm.* 153, 402 (2001).
- Muller W. E.: *Pharmacol. Res.* 47, 101 (2003).
- Chatterjee S. S., Bhattacharya S. K., Wonnemann M., Singer A., Muller W. E.: *Life Sci.* 63, 499 (1998).
- Murashige T., Skoog F.: *Physiol. Plant.* 15, 473 (1962).
- Fuzzati N., Gabetta B., Strepponi I., Villa F.: *J. Chromatogr., A* 926, 187 (2001).
- Štěrbová D., Klejdus B., Kramářová E., Kubáň V.: *Chem. Listy* 96, 202 (2002).
- Draves A. H., Walker S. E.: *J. Chromatogr., B* 749, 57 (2000).
- Riedel K. D., Rieger K., Martin-Facklam M., Mikus G., Haefeli W. E., Burhenne J.: *J. Chromatogr. B* 813, 27 (2004).
- Likussar W., Rueckert U., Ortner A.: *Eur. J. Pharm. Sci.* 23, S64 (2004).
- Bauer S., Stormer E., Graubaus H. J., Roots I.: *J. Chromatogr., B* 765, 29 (2001).
- Li W. K., Fitzloff J. F.: *J. Chromatogr., B* 765, 99 (2001).
- Chalker-Scott L.: *Photochem. Photobiol.* 70, 1 (1999).
- Sirvent T. M., Gibson D. M.: *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 60, 311 (2002).
- Walker T. S., Bais H. P., Vivanco J. M.: *Phytochemistry* 60, 289 (2002).
- Sirvent T. M., Krasnoff S. B., Gibson D. M.: *J. Chem. Ecol.* 29, 2667 (2003).
- Guedes A. P., Amorim L. R., Vicente A. M. S., Ramos G., Fernandes-Ferreira M.: *J. Agric. Food Chem.* 51, 1399 (2003).
- Southwell I. A., Bourke C. A.: *Phytochemistry* 56, 437 (2001).
- Goldman P.: *Ann. Intern. Med.* 135, 594 (2001).

M. Pavlík^a, J. Vacek^b, B. Klejdus^c, and V. Kubáň^c
^aDepartment of Natural Drugs, Veterinary and Pharmaceutical University, Brno, ^bInstitute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Brno, ^cDepartment of Chemistry and Biochemistry, Mendel University of Agriculture and Forestry, Brno): **High Performance Liquid Chromatographic Study of Influence of Saccharose and Poly(ethylene glycol) on Production of Hypericin and Hyperforin by *Hypericum perforatum* L.**

The influence of saccharose and poly(ethylene glycol) present in the cultivation medium on production of hypericin and hyperforin by *Hypericum perforatum* L. was evaluated in *in vitro* experiments. Hypericin and hyperforin were isolated by modified Soxhlet extraction with 80% ethanol and determined by HPLC with UV-Vis detection at 592 and 292 nm in less than 4 min. Calibration graphs were linear in the concentration interval 20–200 ng per injection (5 µl) with correlation coefficients $R^2 > 0.999$. Limits of detection (for the 3 S/N criterion) were 90 and 270 pg per injection for both hypericin and hyperforin. Addition of saccharose (10, 20 and 30 g dm⁻³) or PEG (1.25–5 g dm⁻³) to cultivation medium increased the production of both substances in plant tissues. Synthesis of both substances in most experimental plants was the same or lower at higher contents of PEG. Concentrations of hypericin and hyperforin in plants were of the order 10⁰ and 10³ µg g⁻¹, respectively. Morphological changes induced by saccharose and poly(ethylene glycol) were also observed and described.

VŠCHT Praha přijme vědeckého pracovníka/pracovníci pro oblast technické mineralogie na Ústav skla a keramiky.

Požadovaný profil vhodného uchazeče:

- VŠ vzdělání technického anebo přírodovědného směru,
- vědecká hodnost Ph.D. (Dr. nebo CSc.), případně perspektiva jejího obhájení v krátké době,
- zkušenosti v oblasti materiálů, mineralogie či optické mikroskopie jsou vítány.

Nabízíme:

- samostatnou práci na špičkovém pracovišti,
- příležitost k profesnímu rozvoji,
- pracoviště v blízkosti metra,
- pružnou pracovní dobu,
- příspěvek na stravování, návštěvu kulturních a sportovních zařízení, rekreaci, penzijní připojištění.

Nástup: září 2007

Kontakt: doc. RNDr. Ondrej Gedeon, Ph.D., tel. 220443695, ondrej.gedeon@vscht.cz

OPTIMALIZÁCIA EXTRAKCIE FENOLOVÝCH ZLOŽIEK Z POHÁNKY NA ZÁKLADE VÝSLEDKOV PLÁNOVANÉHO EXPERIMENTU

ANNA MIKULAJOVÁ^a, MÁRIA TAKÁCSOVÁ^a, PAVOL ALEXÝ^b a LUCIA BRINDZOVÁ^a

^a Ústav biochémie, výživy a ochrany zdravia, Oddelenie výživy a hodnotenia potravín, ^b Ústav polymérnych materiálov, Oddelenie plastov a kaučuku, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita, Radlinského 9, 812 37 Bratislava
anna.mikulajova@stuba.sk

Došlo 8.3.06, prepracované 16.11.06, prijaté 30.11.06.

Kľúčové slová: plánovaný experiment, optimalizácia extrakcie, fenolové zlúčeniny, antioxidačná aktivita

Úvod

Fenolové zlúčeniny iniciujú v poslednom období značný záujem tak producentov potravín ako i spotrebiteľov. Je to vďaka početným epidemiologickým štúdiám indikujúcim ich zdraviu prospešné účinky, ktoré sú väčšinou prisudzované ich antioxidačným vlastnostiam^{1,2}. Napr. rutin, ktorý sa s výnimkou pohánky nevyskytuje v žiadnej cereálii ani pseudocereálii, sa vyznačuje mnohými farmakologickými účinkami. Spomenieme napr. antihemoragické^{3,4}, antikarcinogénne^{5–7}, hypotenzívne^{3–5,7–9}, pozitívne účinky na permeabilitu ciev a protizápalové^{7–10} účinky.

Extrakcia a purifikácia bioaktívnych zlúčenín z prírodných zdrojov sú významné technologické postupy, nakoľko sa často používajú na prípravu nutraceutík, potravinových aditív, farmaceutických a kozmetických produktov. Dôležité sú i preto, že výsledky *in vitro* štúdií a pokusov so zvieratami ukazujú, že terapeuticky a klinicky dostatočné dávky fytochemikálií sú vyššie ako je ich obsah v potrave¹¹. Extrakčná procedúra je veľmi dôležitá, nakoľko podmienky extrakcie určujú kvalitatívne i kvantitatívne zastúpenie jednotlivých zložiek¹². Okrem iných, k dôležitým parametrom extrakčného procesu patria: extrakčné činidlo, čas, teplota, vzájomný pomer činidla a suroviny, extrakčný tlak. Autori pri svojich pokusoch používajú na prípravu extraktov rôzne parametre extrakcie. Konkrétne pre pohánku sa ako extrahovadlo najčastejšie používa etanol, či už absolútny alebo s určitým obsahom vody. Teploty pri extrakcii sa pohybujú od laboratórných až po reflux, pričom je adekvátne tomu prispôsobená dĺžka extrakcie, t.j. pri nižších teplotách dlhší čas a naopak. Publikovaných je niekoľko prác systematicky sledujúcich vply-

vy faktorov pri extrakcii pohánky na výtťažok rutínu^{12–14}.

Cieľom našej práce bolo optimalizovať extrakčné podmienky tak, aby boli získané extrakty nelúpanej pohánky s najväčšou antioxidačnou aktivitou, najväčším množstvom fenolov, resp. rutínu.

Experimentálna časť

Použitý materiál a chemikálie

Pohánka nelúpaná (*Fagopyrum esculentum*, odroda Špačinská) – zhomogenizovaná mletím (prepad cez sito s veľkosťou oka 0,5 mm) na laboratórnom mlyne VM 4-386.

2,2-Difenyl-1-pikrylhydrazyl voľný radikál (DPPH) (Sigma-Aldrich Chemie, Nemecko), činidlo Folin-Ciocalteu (Merck, Nemecko), etanol 96 %, uhličitán sodný, chlorid hlinitý (Lachema, Brno), štandardy kyseliny galovej a rutínu (Sigma-Aldrich Chemie, Nemecko).

Plánovaný experiment

Metóda plánovaného experimentu bola použitá za účelom komplexného popisu vplyvu skúmaných fyzikálnych parametrov extrakcie na výtťažok extrakcie. Regresné rovnice ako výstup zo štatisticko-regresného spracovania plánovaného experimentu boli ďalej využité pre optimalizačný výpočet. Realizovaný bol trojfaktorový päťúrovňový experiment. Faktory boli navrhnuté nasledovne: teplota (rozsah od 20 °C do 80 °C), čas (rozsah od 30 min do 180 min), extrakčné činidlo etanol o rôznej koncentrácii (rozsah od 40 % do 96 %). Nemenný bol pomer suroviny a extrakčného činidla 1:20 (w/v). Reálne hodnoty faktorov boli transformované na bezrozmerné kódované hodnoty. Bližšie sú podmienky a rozpis experimentu uvedené v tabuľke I a II. Meranými parametrami boli antioxidačná aktivita sledovaná metódou vychytávania voľných DPPH radikálov (AOA), celkové množstvo fenolov (TPC) a množstvo flavonoidov (FL). Matematickým vyhodnotením nameraných hodnôt boli získané regresné rovnice typu: $y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{33}x_3^2$, popisujúce závislosti meraných vlastností od kódovaných hladín sledovaných faktorov. Hodnoty regresných koeficientov sú uvedené v tabuľke IV. Systém regresných rovníc sa použil na optimalizačné výpočty pomocou podprogramu Solver programu Microsoft Excel.

Analytické metódy

Vychytávanie voľných DPPH radikálov

Množstvo vychyteného DPPH radikálu bolo stanovené modifikovanou metódou podľa Yen a Chen¹⁵. K 1 ml extraktu boli pridané 3 ml 96% etanolu a 1 ml DPPH (0,12 g l⁻¹). Presne po 10 min bola zmeraná absorbancia pri 517 nm oproti 96% etanolu. Výsledok udáva množstvo vychyteného DPPH v mg na 1 g suchej vzorky.

Tabuľka I
Podmienky plánovaného experimentu pre definované faktory

Faktor		Kódované hladiny						
		–1,682	–1	0	1	1,682	krok	stred
Teplota, °C	x1	20	32	50	68	80	17,836	50
Čas, min	x2	30	60	105	150	180	44,59	105
Koncentrace etanolu, %	x3	40	51	68	85	96	16,648	68

Tabuľka II
Rozpis pokusov experimentu

Číslo pokusu	Kódované hodnoty faktorov			Reálne hodnoty faktorov		
	teplota	čas	etanol	teplota [°C]	čas [min]	etanol [%]
1	–1	–1	–1	32	60	51
2	1	–1	–1	68	60	51
3	–1	1	–1	32	150	51
4	1	1	–1	68	150	51
5	–1	–1	1	32	60	85
6	1	–1	1	68	60	85
7	–1	1	1	32	150	85
8	1	1	1	68	150	85
9	–1,682	0	0	20	105	68
10	1,682	0	0	80	105	68
11	0	–1,682	0	50	30	68
12	0	1,682	0	50	180	68
13	0	0	–1,682	50	105	40
14	0	0	1,682	50	105	96
15	0	0	0	50	105	68
16	0	0	0	50	105	68
17	0	0	0	50	105	68
18	0	0	0	50	105	68
19	0	0	0	50	105	68
20	0	0	0	50	105	68

Stanovenie celkového množstva fenolov

Na stanovenie bola použitá metóda s činidlom Folin-Ciocalteu¹⁶. Reakciou fenolových zlúčenín s činidlom Folin-Ciocalteu vzniklo modré zafarbenie, ktorého intenzita bola meraná pri 765 nm. Ako štandard bola použitá kyselina galová (GAE) a celkový obsah fenolových zlúčenín bol vyjadrený v mg GAE na 1 g suchej vzorky. Na analýzu bolo pipetované 0,5 ml roztokov štandardu resp. vzorky, 0,5 ml činidla Folin-Ciocalteu a po 3 minútach 1,5 ml 20% uhličitanu sodného a doplnené destilovanou vodou do 10 ml. Po 2 h bola zmeraná absorbancia pri 765 nm.

Stanovenie flavonoidov

Na stanovenie obsahu flavonoidov bola použitá metó-

da prídavku AlCl_3 (cit.⁸). K 2 ml vzorky v etanole bolo pridané 0,2 ml 5% etanolového roztoku AlCl_3 . Po 30 min bola zmeraná absorbancia pri 420 nm oproti etanolu s prídavkom AlCl_3 . Výsledok bol vztiahnutý na rutín a vyjadrený v mg rutínu na 1 g suchej vzorky.

Výsledky a diskusia

Účinnosť extrakcie je vo všeobecnosti ovplyvnená viacerými faktormi, pričom ich vplyvy môžu byť buď navzájom nezávislé alebo súčinné¹². V našom experimente sme sledovali a vyhodnotili závislosť polarita extrahovadla, teploty a doby extrakcie a to z toho dôvodu, že ich po-

Tabuľka III

Namerané hodnoty sledovaných parametrov: antioxidačnej aktivity, množstva celkových fenolových zlúčenín a množstva flavonoidov

Číslo pokusu	AOA [mg DPPH/ g sušiny]	TPC [mg GAE/ g sušiny]	FL [mg rutínu/ g sušiny]
1	12,3	1,76	0,171
2	14,0	2,62	0,351
3	12,4	1,78	0,183
4	16,1	2,79	0,475
5	7,5	1,42	0,148
6	12,1	1,84	0,291
7	10,4	1,59	0,190
8	12,7	2,16	0,422
9	11,2	1,77	0,178
10	20,7	3,18	0,706
11	14,4	2,23	0,306
12	16,9	2,90	0,474
13	11,4	2,02	0,265
14	8,0	1,40	0,250
15	14,7	2,43	0,361
16	15,2	2,42	0,389
17	15,4	2,57	0,392
18	15,0	2,57	0,388
19	14,3	2,49	0,369
20	14,4	2,54	0,362

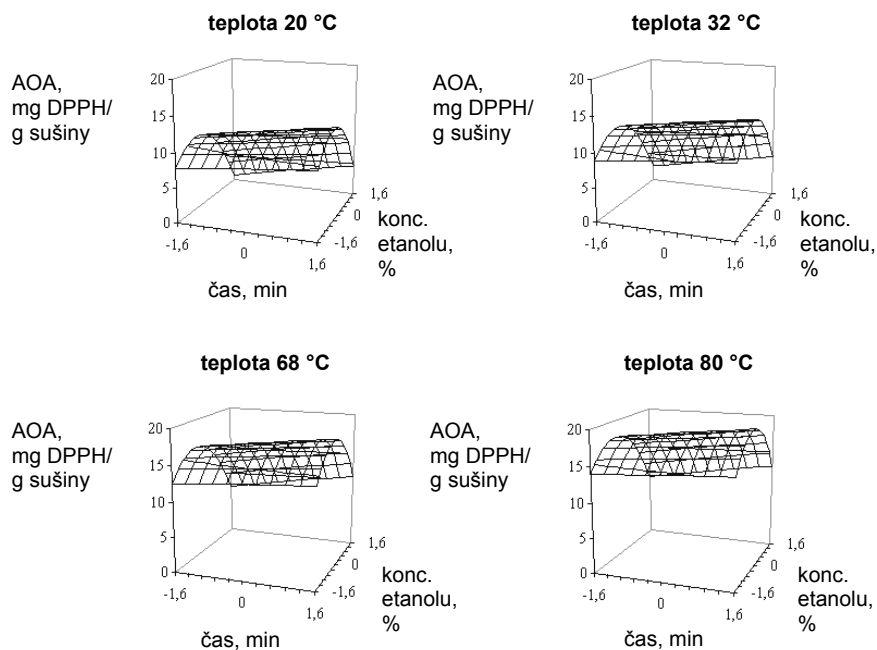
važujeme za jedny z najvýznamnejších. Rozmedzia faktorov sme vybrali na základe doterajších praktických skúseností a poznatkov. Uskutočnených bolo 20 pokusov. Výsledky stanovenia antioxidačnej aktivity, celkových fenolov a flavonoidov jednotlivých pokusov sú uvedené v tabuľke III. Získané výsledkové plochy AOA v závislosti od sledovaných faktorov sú zobrazené na obr. 1. Z výsledkových plôch zvyšných dvoch sledovaných parametrov sme na znázornenie vybrali závislosti pri najvyššej teplote (obr. 2 a obr. 3).

Koncentrácia etanolu výrazne ovplyvňuje sledované výstupné parametre. So vzrastom organickej zložky v extrakčnom médiu merané parametre stúpajú až po maximum, po ktorom nasleduje pokles. Hodnoty parametrov sú po extrakcii 96% etanolom nižšie ako po extrakcii 40% etanolom, pričom rozdiely medzi týmito krajnými bodmi sú pri nižších teplotách v prípade fenolov a flavonoidov menšie a so vzrastom teploty sa zväčšujú.

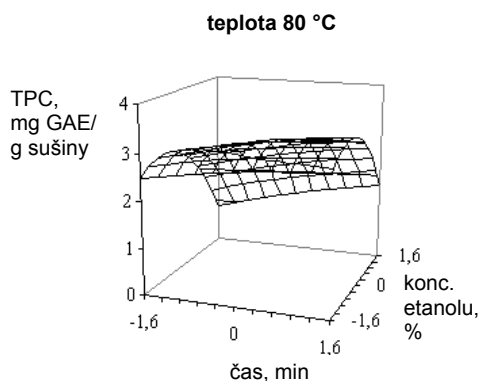
S ohľadom na extrakčnú teplotu možno z grafov vidieť, že pri narastaní teploty sa plocha grafu posúva nahor, čo znamená rast sledovaných parametrov. K nárastu dochádza v celom zadanom rozsahu teplôt, avšak rozdiely medzi 68 °C a 80 °C sú malé. Z meraných parametrov bolo teplotou najviac ovplyvňované množstvo flavonoidov.

Z nezávislých premenných bola dĺžka extrakcie najmenej vplývajúca, najmä čo sa týka antioxidačnej aktivity a obsahu fenolov. Množstvo flavonoidov záviselo od času vo väčšej miere, najmä pri vyššej teplote viedlo predĺženie extrakcie k výraznejšiemu nárastu ich množstva.

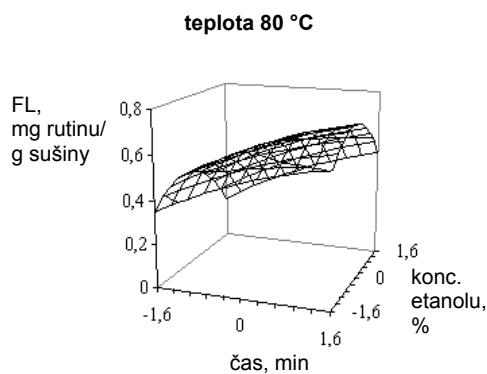
Podiel organickej zložky v extrakčnom činidle má najvýraznejší vplyv na antioxidačnú aktivitu a tiež na



Obr. 1. Výsledková plocha antioxidačnej aktivity v závislosti od času (faktor x2) a koncentrácie etanolu (faktor x3) pri rôznych teplotách (faktor x1)



Obr. 2. Výsledková plocha celkového množstva fenolov v závislosti od času (faktor x2) a koncentrácie etanolu (faktor x3) pri teplote 80 °C (faktor x1)



Obr. 3. Výsledková plocha množstva flavonoidov v závislosti od času (faktor x2) a koncentrácie etanolu (faktor x3) pri teplote 80 °C (faktor x1)

množstvo fenolov a flavonoidov v extraktoch.

Na základe regresných rovníc, ktorých vypočítané koeficienty sú uvedené v tab. IV sme sa pokúsili vypočítať optimálne podmienky pre prípravu pohánkových extraktov tak, aby tieto produkty mali čo najväčšiu schopnosť vychytávať voľné radikály.

Pre optimalizačný výpočet sme použili podprogram Solver programu Microsoft Excel, pričom ako účelová funkcia bola zadaná rovnica pre antioxidačnú aktivitu, pre ktorú sa požadovala maximálna hodnota. Výsledkom optimalizačného výpočtu sú nasledovné podmienky extrakcie: koncentrácia etanolu 65 %, teplota 80 °C, doba extrakcie 180 min.

Za týchto vypočítaných podmienok bol realizovaný experiment, ktorého výsledky boli porovnané s predpokladanými hodnotami získanými na základe výpočtu z regresných rovníc. Výsledky porovnania sú uvedené v tabuľke V.

Tabuľka IV

Vypočítané koeficienty jednotlivých regresných rovníc

Koeficienty	AOA	TPC	FL
b0	14,87	2,51	0,38
b1	2,07	0,38	0,13
b2	0,74	0,13	0,04
b3	-1,29	-0,22	-0,01
b11	0,09	-0,06	0,005
b12	-0,04	0,04	0,02
b13	0,20	-0,11	-0,01
b22	-0,03	-0,03	-0,01
b23	0,17	0,04	0,005
b33	-2,13	-0,33	-0,06

Pozn.: Hrubým sú vyznačené štatisticky významné regresné koeficienty na hladine spoľahlivosti $P=0,05$

Na základe porovnania vypočítaných a nameraných výsledkov možno konštatovať, že je medzi nimi dobrá zhoda a teda výpočet možno považovať za dostatočne vierohodný.

Metóda optimalizácie, založená na regresných rovniciach získaných pomocou plánovaného experimentu, umožňuje zohľadniť nielen izolované efekty sledovaných faktorov, ale aj ich vzájomné spolupôsobenie, vyjadrené v interakčných koeficientoch regresných rovníc. Doposiaľ publikované práce nepopisujú takéto komplexné riešenie optimalizácie prípravy pohánkového extraktu, ale vychádzajú z postupných zmien jednotlivých parametrov. Tak napríklad Kim a spol.¹³ dvojstupňovo extrahovali rutín z celej rastliny pohánky 50% etanolom pri teplotách 30 °C až 100 °C. Na dosiahnutie vysokého výťažku rutínu (stanovované pomocou HPLC) stanovili ako optimálny teplotný rozsah 60–80 °C. Následne pri teplote 80 °C sledovali vplyv času (rozsah 0,5–4 h). Obsah rutínu rástol do 1 h, potom postupne klesal. Autori pokles vysvetľujú pravdepodobnými stratami rutínu pri vyššej teplote. V našom experimente sme do 3 h pokles nezaznamenali, zhodujeme sa však s autormi¹³ v optimálnom teplotnom rozmedzí. Podľa iných autorov, predĺženie času (viac ako 2 h) pri nižšej (25 °C) i vyššej (60 °C) teplote a extrakcii 30% etanolom vedie k stratám rutínu, čo nebolo pozorované, ak sa použil 70% etanol¹². Krefť a spol.¹⁴ uvádzajú 50–60% etanol ako najvhodnejší na získavanie rutínu zo zrna pohánky, avšak pri nižšej teplote (30 °C) a dobe extrakcie 3 h.

Je však publikovaných veľa prác venujúcich sa problematike predikcie a optimalizácie chemických a biochemických procesov v rôznych oblastiach, napr. potravinárstve^{17–21}, farmácii^{22–24}, toxikológii²⁵ i poľnohospodárstve²⁶. Aplikované optimalizačné metódy v prácach sú klasické modelovacie techniky (t.j. „response surface methodology“, RSM) a tiež umelé neuronové siete

Tabuľka V

Porovnanie vypočítaných a experimentálnych hodnôt pre optimalizovaný postup extrakcie pohánky etanolom

Faktory a parametre	Požiadavka optimalizácie	Vypočítané	Experimentálne
Teplota, °C	žiadna	80	
Čas, min	žiadna	180	
Konc. etanolu, %	žiadna	65	
AOA, mg DPPH/g sušiny	maximum	19,7±2,2	20,2±0,3
TPC, mg GAE/g sušiny	žiadna	3,28±0,29	3,24±0,01
FL, mg rutínu/g sušiny	žiadna	0,719±0,093	0,748±0,005

(„artificial neural networks“, ANN). Objavujú sa publikácie, v ktorých sú porovnávané RSM a ANN^{27–30} i publikácie pojednávajúce o možnostiach vzájomného prepojenia týchto metód^{30–32}.

Záver

Pomocou regresných modelov získaných na základe plánovaného experimentu možno získať predstavu o hodnotách sledovaných parametrov v extraktoch získaných pri konkrétnych podmienkach extrakcie pohánky etanolom. Podmienky extrakcie možno voliť tak, aby bol získaný extrakt o požadovaných vlastnostiach. Umožňujú predpovedať vplyv faktorov na antioxidačnú aktivitu, resp. množstvo fenolových zlúčenín.

This work was supported by the Governmental Project 2003 SP 27/028 OE 02/028 OE 02 “Quality, Safety and Functionality of Primary Food Resources”.

LITERATÚRA

- Németh K., Plumb G. W., Berrin J.-G., Juge N., Jacob R., Naim H. Y., Williamson G., Swallow D. M., Kronon P. A.: *Eur. J. Nutr.* 42, 29 (2003).
- Arnao M. B., Cano A., Acosta M.: *Food Chem.* 73, 239 (2001).
- Fabjan N., Rode J., Kosir I. J., Wang Z., Zhang Z., Kreft I.: *J. Agric. Food Chem.* 51, 6452 (2003).
- Baumgartel A., Grimm R., Eisenbeiß W., Kreis W.: *Phytochem.* 64, 411 (2003).
- Kreft S., Štrukelj B., Gaberščik A., Kreft I.: *J. Exp. Bot.* 53, 1801 (2002).
- Song Z., Hou S.: *Talanta* 57, 59 (2002).
- Préstamo G., Pedrezuela A., Peñas E., Lasunción M. A., Arroyo G.: *Nutr. Res.* 23, 803 (2003).
- Quettier-Deleu Ch., Gressier B., Vasseur J., Dine T., Brunet C., Luyckx M., Cazin M., Cazin J.-C., Baileul F., Trotin F.: *J. Ethnopharmacol.* 72, 35 (2000).
- Suzuki T., Honda Y., Funatsuki W., Nakatsuka K.: *Plant Sci.* 163, 417 (2002).
- Oomah B. D., Mazza G.: *Food Chem.* 44, 1746 (1996).
- Rowland I.: *Proc. Nutr. Soc.* 58, 415 (1999).
- Hinneburg I., Neubert R. H. H.: *J. Agric. Food Chem.* 53, 3 (2005).
- Kim K. H., Lee K. W., Kim D. Y., Park H. H., Kwon I. B., Lee H. J.: *Bioresour. Technol.* 96, 1709 (2005).
- Kreft S., Knapp M., Kreft I.: *J. Agric. Food Chem.* 47, 4649 (1999).
- Yen G. Ch., Chen H. Y.: *J. Agric. Food Chem.* 43, 27 (1995).
- Yu L., Haley S., Peret J., Harris M.: *Food Chem.* 78, 457 (2002).
- Sérot T., Lafficher C.: *Food Chem.* 82, 513 (2003).
- Gutés A., Céspedes F., Alegret S., del Valle M.: *Biosens. Bioelectron.* 20, 1668 (2005).
- Habibi-Yangjeh A., Donandeh-Jenagharad M., Nooshyar M.: *J. Mol. Model.* 12, 338 (2006).
- Junqueira R. M., Castro I. A., Arêas J. A. G., Silva A. C. C., Scholz M. B. S., Mendes S., Oliveira K. C.: *Food Chem.* 101, 131 (2007).
- Liyana-Pathirana Ch., Shahidi F.: *Food Chem.* 93, 47 (2005).
- Peh K. K., Lim Ch. P., Quek S. S., Khoh K. H.: *Pharm. Res.* 17, 1384 (2000).
- Ben Hameda A., Gajdoová D., Havel J.: *J. Sep. Sci.* 29, 1188 (2006).
- Agatonovic-Kustrin S., Beresford R.: *Pharm. Biomed. Anal.* 22, 717 (2000).
- Dohnal V., Kuča K., Jun D.: *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech Repub.* 149, 221 (2005).
- Trojanowicz M.: *Electroanalysis* 14, 1311 (2002).
- Bourquin J., Schmidli H., van Hoogevest P., Leuenberger H.: *Eur. J. Pharm. Sci.* 7, 17 (1998).
- Bourquin J., Schmidli H., van Hoogevest P., Leuenberger H.: *Eur. J. Pharm. Sci.* 6, 287 (1998).
- Baş D., Boyacı İ. H.: *J. Food Eng.* 78, 846 (2007).
- Agatonovic-Kustrin S., Zecevic M., Zivanovic Lj., Tucker I. G.: *Anal. Chim. Acta* 364, 265 (1998).
- Balkin S. D., Lin D. K. J.: *Appl. Regression Anal.* 29, 2215 (2000).

A. Mikulajová^a, M. Takáčsová^a, P. Alexy^b, and L. Brindzová^a (*^aInstitute of Biochemistry, Nutrition and Health Protection, Department of Nutrition and Food Assessment, ^bDepartment of Plastics and Rubber, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak Technical University, Bratislava*): **Optimization of Extraction of Phenolic Compounds from Buckwheat Based on an Experimental Design Method**

The selection of suitable extraction conditions for antioxidants from plant material is crucial. In consequence of various nature of active compounds in different plant materials, the extraction conditions cannot be generalized. The objective of this study was to optimize the extraction conditions of buckwheat phenolics using the results of an experimental design method.

APROCHEM 2008

17. Konference • Chemické technologie • Ropa • Petrochemie • Polymery

Udržitelný rozvoj průmyslu • Výzkum • Školství • Prostředí • Bezpečnost • Legislativa

14. – 16. duben 2008 • Milovy – Sněžné na Moravě • Hotel Devět Skal

ODPADOVÉ FÓRUM 2008

3. Symposium • Výsledky výzkumu a vývoje pro odpadové hospodářství

Nebezpečné, chemické, biodegradabilní a inertní odpady • Termické využití • Recyklace •

Sanace zátěží • Systémové otázky • Odpadní vody • Čištění exhalací

16. – 18. duben 2008 • Milovy – Sněžné na Moravě • Hotel Devět Skal

Doprovodná technická výstavka • Firemní prezentace • Možnosti inzerce

Plná znění příspěvků na CD i v tištěné formě • Pro obě dílčí akce jediná registrace

1. cirkulář vyjde v září 2007. Nabídky příspěvků budou žádány do 15. 1. 2008, plná znění do 15. 3. 2008. 2. cirkulář vyjde v únoru 2008. Všechny informace současně na internetu.

Připravuje: PCHE s ČSPCH, ČSCHI, ČSCH, VŠCHT Praha, SCHP ČR, ÚCHP AV ČR a CEMC.
Příprava 3. symposia ODPADOVÉ FÓRUM 2008 s Redakcí časopisu Odpadové fórum CEMC.

Kontakty: PCHE - PetroCHEmEng, Ing. Jaromír Škarka, CSc., Na Dračkách 13, 162 00 Praha 6
T/F: 220 518 698 • M: 607 671 866

www.aprochem.cz • pche@csvts.cz

ANALÝZA OBRAZU A AKTIVITA INTRACELULÁRNÍCH ESTERAS JAKO NOVÝ ANALYTICKÝ NÁSTROJ PRO SLEDOVÁNÍ RŮSTU A ŽIVOTNOSTI EMBRYONÁLNÍCH KULTUR SMRKU (*Picea sp.*) OVLIVNĚNÝCH KADMIEM

JIRÍ PETŘEK^a, JIRÍ BALOUN^{a,b}, HELENA VLAŠÍNOVÁ^a, LADISLAV HAVEL^a, VOJTĚCH ADAM^{b,c}, JAN VÍTEČEK^a, PETR BABULA^d a RENÉ KIZEK^b

^a Ústav biologie rostlin a ^b Ústav chemie a biochemie, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, ^c Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno, ^d Ústav přírodních léčiv, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého 1/3, 612 42 Brno
kizek@sci.muni.cz

Došlo 3.5.06, přepracováno 11.9.06, přijato 6.10.06.

Klíčová slova: *Picea abies*, *Picea pungens*, rané somatické embryo, esterasy, Brdčková reakce, elektrochemie, spektrofluorimetrie, kadmium

Úvod

Analýza obrazu (Image analysis, IA) je nástrojem sloužícím k popisu tvaru, struktury ale také vzhledu zkoumaného objektu. Digitální analýza obrazu umožňuje rychlejší elektronické zpracování dat, je snadno opakovatelná a obvykle nevyžaduje velké zkušenosti s analytickým postupem¹. Nově se ukazuje, že analýza a digitalizace obrazu u rozdílných biologických objektů a struktur může přinést mnoho potřebných informací o jejich fyziologii^{2–6}. Navíc umožňuje kvantifikaci růstových a morfologických změn^{1,7–9}. Významnou výhodou a předností počítačové analýzy obrazu v *in vitro* kultivovaných kulturách je – na rozdíl od jiných experimentálních postupů – možnost sledovat výše uvedené parametry během kultivačního procesu bez externích zásahů (narušení sterility prostředí, mechanické poškození, stresová reakce apod.)¹.

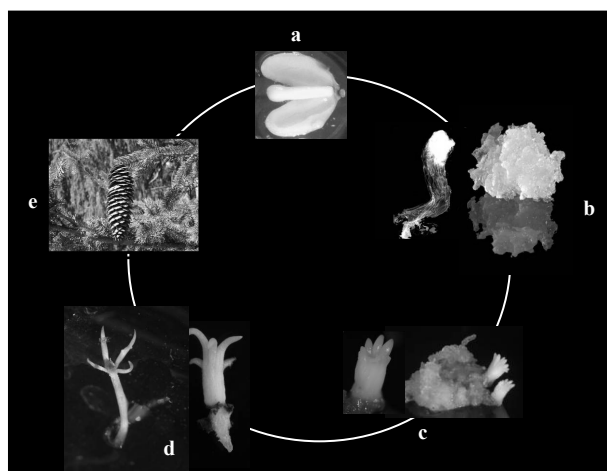
Kultivační postupy v podmínkách *in vitro* jsou v současnosti stále více využívány pro uchování genofondu vzácných genotypů dřevin, snadné a rychlé množení rostlin, a pro další biotechnologické aplikace^{10–15}. Pro odvození explantátové kultury rostlin je vhodné jakékoliv pletivo (část rostliny) obsahující buňky s funkčním jádrem.

Takové pletivo (explantát) je umístěno do sterilního prostředí, kde se dále kultivuje^{16–18}. Za přesně definovaných podmínek lze z takto odvozené kultury získat prakticky neomezené množství klonů původní rostliny, ze které explantát pocházel. Tento postup je schematicky ukázán na obr. 1. Významná je také kultivace dřevin metodou somatické embryogeneze, která vede k získání geneticky kvalitních a průmyslově využitelných rostlin^{17,19–24}. Při této metodě získáváme embryonální kultury, které lze odvodit z jakékoliv somatické (tělní) buňky. Je tak třeba hledat nové analytické metody sledování produkce a růstu takových kultur. Proto IA nachází uplatnění také v případě automatického sledování produkce somatických embryí¹⁰, tvaru, velikosti nebo barvy kultury^{1,25}. Cílem této práce byla aplikace metody analýzy obrazu pro sledování růstu různých embryonálních kultur smrku. Metoda byla porovnána s gravimetrickou metodou a aktivitou intracelulárních esterasy. Navíc byl studován obsah glutathionu pomocí Brdčkovy reakce v těchto kulturách.

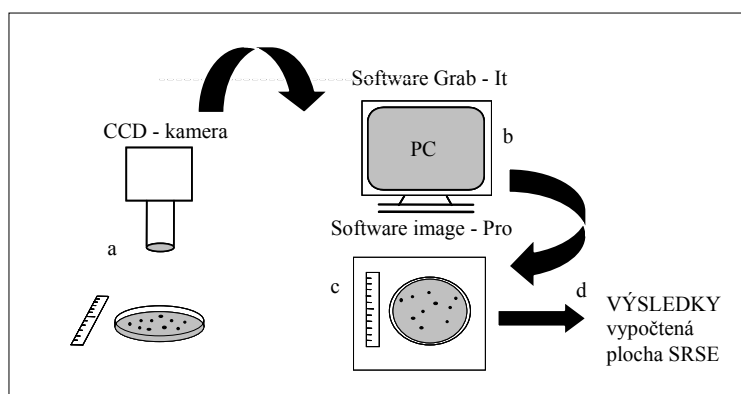
Experimentální část

Chemikálie

Pokud není uvedeno jinak, byly použity chemikálie dodané firmou Sigma Aldrich (USA) v čistotě ACS. Fosfátové pufrы byly připraveny z hydrogen- a dihydrogenfosforečnanu draselného. Jejich pH bylo upraveno pomocí KOH. Fluoresceindiacetát (FDA) byl zakoupen u firmy Sigma Aldrich Chemical Corp. (USA). Jeho roztok byl připraven rozpuštěním navážky v bezvodém acetonu. Na kultivační media byly použity chemikálie dodané firmou Duchefa Biochemie BV (Nizozemí). Media a roztoky byly



Obr. 1. Schéma množení smrku pomocí somatické embryogeneze v podmínkách *in vitro*; (a) zygotické embryo, (b) kultura raných somatických embryí, (c) kultura zralých somatických embryí, (d) růst kořene a děloh, (e) běžný růst v podmínkách *in vivo*



Obr. 2. Schéma analýzy obrazu; (a) digitalizace obrazu Petriho misky se shluky raných somatických embryí (SRSE) pomocí CCD kamery, (b) načtení obrazu do programu Grab-IT, (c) počítačový obraz, (d) výpočet plochy programem Image-Pro

připraveny rozpuštěním příslušných látek v deionizované vodě (18,2 M Ω , Iwa 20, Watek, Česká republika).

Rostlinný materiál

Byly využity kultury raných somatických embryí smrku ztepilého (*Picea abies* /L./ Karst.), klon 2/32, a smrku pichlavého (*Picea pungens* Engelm.), klon PE 14. Klon 2/32 pochází ze smrku ztepilého horského klimaxového typu z pokusné plochy v Beskydách. Klon PE 14 byl odvozen ze smrku pichlavého, přičemž pro jeho odvození byla použita zralá semena ze vzrostlého stromu *Picea pungens* Engelm. 'Argentea' v areálu Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně. Kultury jsou udržovány za striktně sterilních podmínek (flow box Gelaire HF 36) a vždy po 14 dnech kultivace se provádí pasáž. Při pasáži jsou z horních partií shluků raných somatických embryí (SRSE) odebírány části s vyvinutými skupinami embryonálních buněk o hmotnosti přibližně 2,5–5,0 mg a přenášeny na novou Petriho misku (průměr 90 mm) s kultivačním médiem (30 ml). SRSE jsou kultivovány ve tmě při teplotě 23 \pm 2 °C. Na jednu misku připadlo vždy 10 SRSE.

Kultivační médium

Všechny výše uvedené kultury jsou dlouhodobě kultivovány na kultivačním médiu LP/2 (cit.²⁶), které je modifikováno 9 μ M 2,4-dichlorfenoxycetové kyseliny a 4,4 μ M benzylaminopurinu²⁷. Při přípravě kultivačního média byly anorganické i organické složky rozpuštěny v deionizované destilované vodě, pH bylo upraveno na hodnotu 5,7–5,8 pomocí KOH/HCl (pH metr Schott CG 842). Následně byla anorganická část média sterilizována při teplotě 121 °C a tlaku 100 kPa po dobu 30 min (Tuttnauer 3870 EA); organická část byla sterilizována membránovou filtrací (Whatman Puradisc 25 AS 0,2 μ m).

Při našich pokusech bylo nezbytné modifikovat kultivační média. Přidavek kadmnatých iontů vedl okamžitě

ke vzniku sraženin. Z tohoto důvodu jsme přistoupili k jeho vyvázání pomocí EDTA. Navíc je známo, že cheláty těžkých kovů mnohem lépe prostupují přes různé buněčné bariéry^{28–30}. Do základního média byl přidán chelát kadmia (Cd-EDTA) ve výsledných koncentracích 50 μ M, 250 μ M a 500 μ M. Roztok Cd-EDTA byl připraven podle postupu uvedeného v práci Vassil a spol.³¹. Zásobní roztok Cd(NO₃)₂ byl smíchán s kyselinou ethylendiamintetraoctovou (EDTA) v poměru 1:1 při teplotě 50 °C po dobu 1 h. Komplex Cd-EDTA byl přidán k anorganické části kultivačního média.

Analýza obrazu SRSE

Pro zjištění plochy jednotlivých SRSE byla nutná digitalizace obrazu každé Petriho misky. Digitalizace byla provedena metodou analýzy obrazu pomocí kamery CCD Sony (UPV-GDS 8 000) a programu GRAB-IT (obr. 2). Pro vyhodnocení jednotlivých ploch byl využit program IMAGE – PRO. Plochy byly zjišťovány na začátku a poté v průběhu experimentu. Údaje byly dále zpracovány v programu Microsoft Excel; výsledkem byl průměrný přírůstek SRSE.

Stanovení životnosti pomocí fluorescenčních barviv

Sledování životnosti buněk bylo provedeno pomocí barvení fluorescenčními barvivami – propidium jodidem (PI) a fluoresceindiacetátem (FDA) podle metody uvedené v práci Jones a spol.³². PI není propouštěn přes cytoplasmatickou membránu dovnitř živé buňky. V případě mrtvé buňky, která má nefunkční cytoplasmatickou membránu, se dostává dovnitř a způsobuje červené fluorescenční zbarvení. FDA je schopen projít přes funkční cytoplasmatickou membránu a je v živých buňkách štěpen na octan a fluorescein, který vydává zelené fluorescenční zbarvení. Při vlastním barvení byla odebrána horní část SRSE, která byla umístěna na podložní sklíčko a následně byla za-

kápnuta suspenzí (37 μl destilované, 10 μl PI a 3 μl FDA, koncentrace FDA 1 mg ml^{-1} a PI 20 mg ml^{-1})^{1,33}. Po pěti minutách inkubace se připravený preparát pozoroval pomocí inverzního fluorescenčního mikroskopu Olympus AX 70 při zvětšení 4×10 a 10×10 . Pro pozorování bylo využito filtru WU, excitace při vlnové délce 330–385 nm. Při sledování preparátů byla pořízena jejich fotodokumentace digitálním fotoaparátém Olympus Camedia C-4040 ZOOM. Životnost byla vypočítána pomocí analýzy obrazu; program IMAGE – PRO vypočítal zastoupení červeně a zeleně zbarvených buněk, tedy buněk mrtvých a živých³⁴.

Stanovení životnosti pomocí aktivity intracelulárních esteraz

SRSE byly odebrány z pevného média, následně byly promyty 50 mM fosfátového pufru (pH 8,7) a byly uchovávány při teplotě $-20\text{ }^\circ\text{C}$. Po rozmrazení byly vzorky doplněny na celkový objem 1 ml extrakčním pufrům (250 mM fosfátový pufr, pH 8,7) a dithiothreitem (DTT, cílová koncentrace 1 mM) a desintegrovány ve skleněném pístovém homogenizátoru (Kavalier, Česká republika), uloženém v ledové lázni po dobu 10 min. Získané rostlinné homogenáty byly umístěny v ledu do ultrazvukové lázně po dobu 1 min a poté byly centrifugovány (10 000 g, 15 min, $4\text{ }^\circ\text{C}$). Alikvot supernatantu byl přidán do reakční směsi obsahující fosfátový pufr (1 M, pH 8,7) a 5 mM FDA, jehož zásobní roztok připravený v bezvodém acetonu byl uchováván v uzavřených nádobkách při $-20\text{ }^\circ\text{C}$. Množství acetonu v reakční směsi nepřekročilo 1 % (v/v). Po 15 minutové inkubaci v termostatu při $45\text{ }^\circ\text{C}$ byla změřena fluorescence (RF-551, Shimadzu Scientific Instruments Inc., USA) – excitace 490 nm/emise 514 nm. Aktivity esteraz byla stanovena v IU (jedna mezinárodní jednotka uvolní při výše uvedených podmínkách 1 μmol fluoresceinu za minutu)^{34–36}.

Elektrochemická analýza

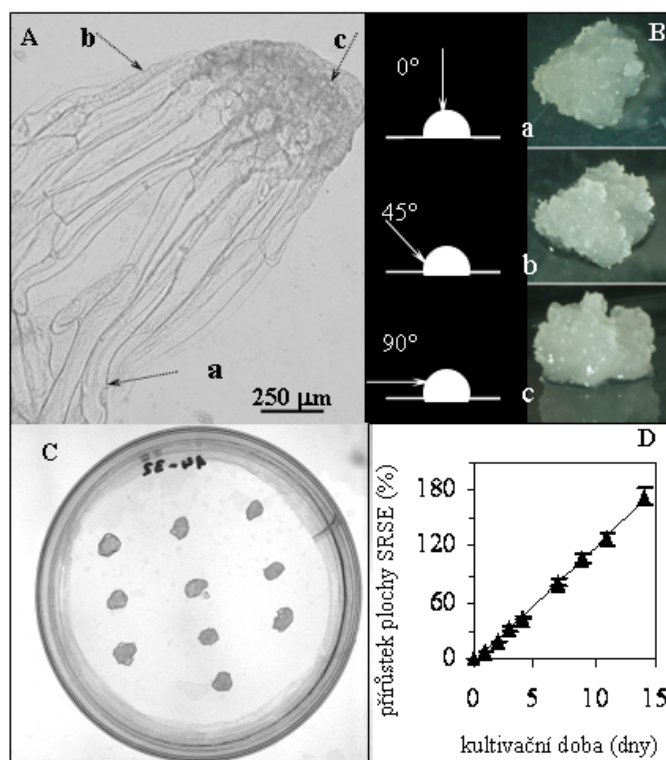
Elektrochemická analýza byla prováděna pomocí elektrochemického analyzátoru AUTOLAB (EcoChemie, Holandsko) v zapojení s tříelektrodovou celou VA-Stand 663 (Metrohm, Švýcarsko). Byla použita visící rtuťová kapková elektroda jako pracovní (HMDE, plocha rtuťové kapky: 0,4 mm^2), referentní elektroda (Ag/AgCl, 3 M KCl) a uhlíková tyčinka jako pomocná elektroda. Získaná data byla upravena matematickou korekcí podle algoritmů navržených Savitzkym a Golayem implementovaných do GPES softwaru (EcoChemie). Stanovení thiolových sloučenin bylo provedeno technikou adsorptivní přenosové rozpouštěcí diferenční pulzní voltametrie (AdTS DPV) – Brdičkova reakce^{37,38}. Experimenty byly prováděny při teplotě $4\text{ }^\circ\text{C}$, v potenciálovém rozsahu od $-0,7\text{ V}$ do $-1,8\text{ V}$, potenciálový krok 1,05 mV, pulzní amplituda 25,05 mV, časový interval 0,2 s, doba akumulace 120 s, potenciál akumulace $-1,1\text{ V}$. Jako základní elektrolyt byl použit 1 mM roztok $\text{Co}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ v amonném pufru (1 M NH_4Cl + 1 M NH_4OH).

Výsledky a diskuse

Studium různých abiotických a biotických faktorů na rostliny je v přirozených podmínkách velmi náročné, proto se hledají možnosti, jak získat rychle dosažitelné a opakovatelné výsledky³⁹. Jednou z možností, které se stále častěji využívá, je studium explantátových kultur rostlin. Mezi takové kultury patří i kultura raných somatických embryí (RSE) smrku²⁷. Charakteristické rysy vzniku RSE u jehličnanů byly popsány mnoha autory^{27,40–43}. Každé RSE smrku se skládá z embryonální skupiny, embryonálních tubulárních buněk a embryonálního suspenzoru (obr. 3A). Zkráceně je pak možné popsat složitý proces růstu embryonální kultury: *i*) nejprve dochází k dělení buněk embryonální skupiny, *ii*) jejich prodlužováním na distálním konci vznikají tubulární buňky, z nichž vzniká embryonální suspenzor, *iii*) buňky suspenzoru jsou uvolňovány do kultivačního média²⁶. Jak stále dochází k oddělování nových tubulárních a suspenzorových buněk směrem od embryonální skupiny, tvoří se shluky raných somatických embryí (SRSE) (obr. 3B). V našich experimentálních podmínkách jsou SRSE kultivovány v Petriho misce na kultivačním médiu a každé dva týdny jsou přeneseny na nové kultivační médium (obr. 3C). Ke sledování kultury, popř. vlivu různých elicitorů na ni, je třeba sledovat základní charakteristiky, jako jsou růst a životnost kultury^{36,44}. Mezi nejčastěji využívané metody pro stanovení růstu rostlinných kultur patří vážení kultury nebo počítání buněk. V případě kultur SRSE smrku je velmi vhodné využít metody IA, neboť při experimentu probíhajícím v čase nemusíme zasahovat (odběr vzorků) do kultivovaného biologického materiálu.

Optimalizace obrazové počítačové analýzy

Nejdříve byly obrazy Petriho misek se shluky RSE digitalizovány pomocí CCD-kamery („charge-coupled device“, označení polovodičového zařízení, které je schopno jak fotodetekce, tak paměťových funkcí, a které převádí světlo na elektronické impulsy). Samotná digitalizace byla řízena PC prostřednictvím programu GRAB-IT. Pro získání kvalitního obrazu bylo nezbytné nastavit vhodnou expozici a rozlišení kritického detailu (místo nejostřejšího vidění předmětu)¹. Bylo zjištěno, že se stoupajícím rozlišením CCD-kamery klesá velikost plochy jednotlivých SRSE. Při rozlišení obrazu 2,8 až 3,6 pixelů na mm je digitalizovaná plocha nadhodnocena asi o 16 % (proti rozlišení 5 pixelů na mm) a hodnoty plochy jsou velice variabilní (kolem 20 %), protože není správně rozeznán okraj SRSE. Při vyšším rozlišení kritického detailu se variabilita výrazně snižuje a roste přesnost určení plochy SRSE. Při hodnotách snímání obrazu nad 5 pixelů na mm je proces snímání obtížnější a méně reprodukovatelný (v zorném poli kamery není celá plocha Petriho misky). Pro další experimenty bylo vybráno rozlišení kritického detailu 8 pixelů na mm, které zajišťuje dobré určení hodnoty plochy SRSE a zároveň je vhodné pro konstantní nastavení metody při jejím



Obr. 3. **Kultura raných somatických embryí smrku ztepilého, klon 2/32.** (A) Rané somatické embryo; (a) embryonální suspensor, (b) embryonální tubulární buňky, (c) embryonální skupina. (B) Shluky raných somatických embryí (SRSE); SRSE po dvoutýdenní kultivaci, fotografie z různého úhlu (Fotoaparát Olympus Digital Camera C-4040 ZOOM); 0° (a), 45° (b), 90° (c). (C) Petriho miska se SRSE na kultivačním médiu. (D) Typická růstová křivka zjištěná metodou analýzy obrazu ($y = 12,392x - 4,2157$; $R^2 = 0,998$)

rutinním využití, tedy aby byla v zorném poli kamery snímána vždy celá plocha (Petriho miska). Při správně nastavené expozici a při stejném nastavení kamery byla zjištěna chyba analýzy 0,31 % ($n=10$). Získané digitální údaje je možno, po zpracování integrálními algoritmy, využít ke kvantifikaci růstu, vitality a horizontálního uspořádání kultury. U embryonální kultury smrku lze pomocí počítačových programů sledovat obvod, plochu, délku, šířku, denzitu a další. Je potřebné zdůraznit, že dosud neexistovala v bioanalýze metoda umožňující sledovat tyto efekty u takto komplikovaných a značně heterogenních kultur (obr. 2).

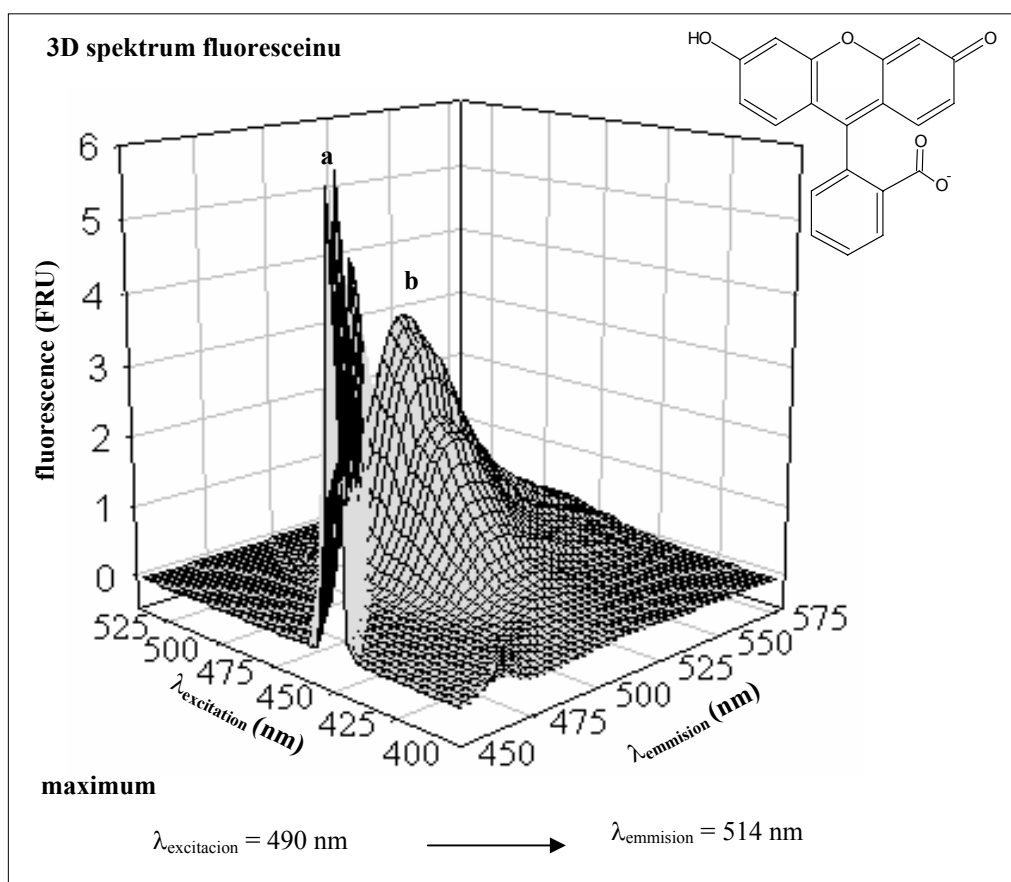
Růstové charakteristiky kultury RSE

Jednou z nejdůležitějších charakteristik každé kultury je růstová křivka. Na základě dříve zjištěných experimentálních dat jsme určili jako nejvhodnější počáteční velikost SRSE kolem 10 mm^2 (cit.¹). Za těchto podmínek byla sestrojena růstová křivka pomocí metody analýzy obrazu (obr. 3D). Při výpočtu přírůstku SRSE vycházíme z původní velikosti. Výsledný přírůstek představuje procento, o kolik se daný SRSE po dobu kultivace zvětšil. Pro výpočet byla využita následující rovnice:

$$P_p = ((I_n / I_0) - 1) \cdot 100 \quad [\%]$$

kde P_p je přírůstek SRSE vyjádřený v procentech, I_n je plocha SRSE po n dnech kultivace [mm^2] a I_0 plocha SRSE na začátku kultivace [mm^2].

Pro ověření analýzy obrazu (IA) bylo provedeno srovnání za využití gravimetrické metody a aktivity intracelulárních esteraz. Nevýhodou gravimetrické metody bylo vysychání SRSE, což může při nedostatečně rychlém vážení ovlivnit získané hodnoty celkového přírůstku SRSE o 20 (po dobu 10 min), resp. o 46 % (po dobu 30 min). Metodu tak nelze využít pro kontinuální studium kultury v průběhu experimentu, neboť dochází ke vzniku silné stresové reakce. Zjistili jsme, že průměrné relativní přírůstky hmotnosti a plochy SRSE v průběhu čtrnáctidenní kultivace vykazovaly striktně lineární trend ($y = 12,392x - 4,2157$; $R^2 = 0,998$). Při kultivaci SRSE po dobu 35 dnů byla linearita zachována při parametrech rovnice přímky: $y = 9,0561x - 6,0197$, $R^2 = 0,9833$. Bylo zjištěno, že hmotnost SRSE v porovnání s jejich plochou roste rychleji, a to po celou dobu kultivace (směrnice jejich přímek se od sebe liší). Pozorované rozdíly jsou pravděpodobně způsobeny růstem SRSE do výšky, což analýzou obrazu nelze zachytit. Dále byla metoda analýzy obrazu porovnána s aktivitou intracelulárních esteraz, kterou lze rovněž využít pro stanovení růstu³⁴. Pro detekci esterazové aktivity byl jako substrát vybrán fluoresceindiacetát (FDA)³⁴, který se půso-



Obr. 4. **Spektrofluorimetrická detekce fluoresceinu;** fluoresceindiacetát je esterasami hydrolyzován na fluorescein, který při $\text{pH} > 7,0$ intenzivně fluoreskuje. Fluorescein poté lze spektrofluorimetricky detegovat ve viditelné oblasti světla (excitace 490 nm/emise 514 nm)

bením esteras hydrolyzuje na fluorescein. Fluorescein poté lze detegovat spektrofluorimetricky ve viditelné oblasti světla (excitace 490 nm/emise 514 nm), viz 3D spektrum fluoresceinu, které je ukázáno na obr. 4. Podobně jako u vážení byla růstová křivka získaná pomocí esterasové aktivity ekvivalentní růstové křivce získané analýzou obrazu.

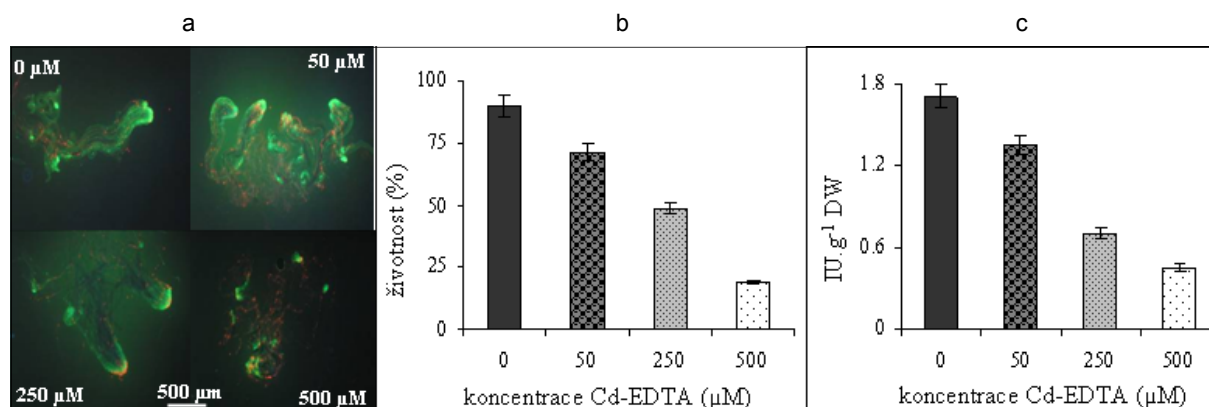
Stanovení životnosti buněk

Aby bylo možné studovat působení abiotických či biotických faktorů na modelové kultury, je naprosto nezbytné znát počet živých buněk. Pro stanovení životnosti bylo vyvinuto několik rozličných, většinou kvalitativních, metod. Nejčastěji se provádí tzv. „dye exclusion test“, při kterém se využívá fluorescenčních barviv propidium jodidu (PI) a fluoresceindiacetátu (FDA). Interpretace výsledků této metody je ovšem v případě kultury RSE velmi obtížná. Nelze dost dobře rozlišit a spočítat jednotlivé buňky RSE a stanovit tak přesně životnost, jak je tomu možné u buněčných suspenzí, např. tabáku. Tento problém je možné vyřešit využitím analýzy obrazu, kdy pomocí programu IMAGE – PRO lze vypočítat zastoupení červeně

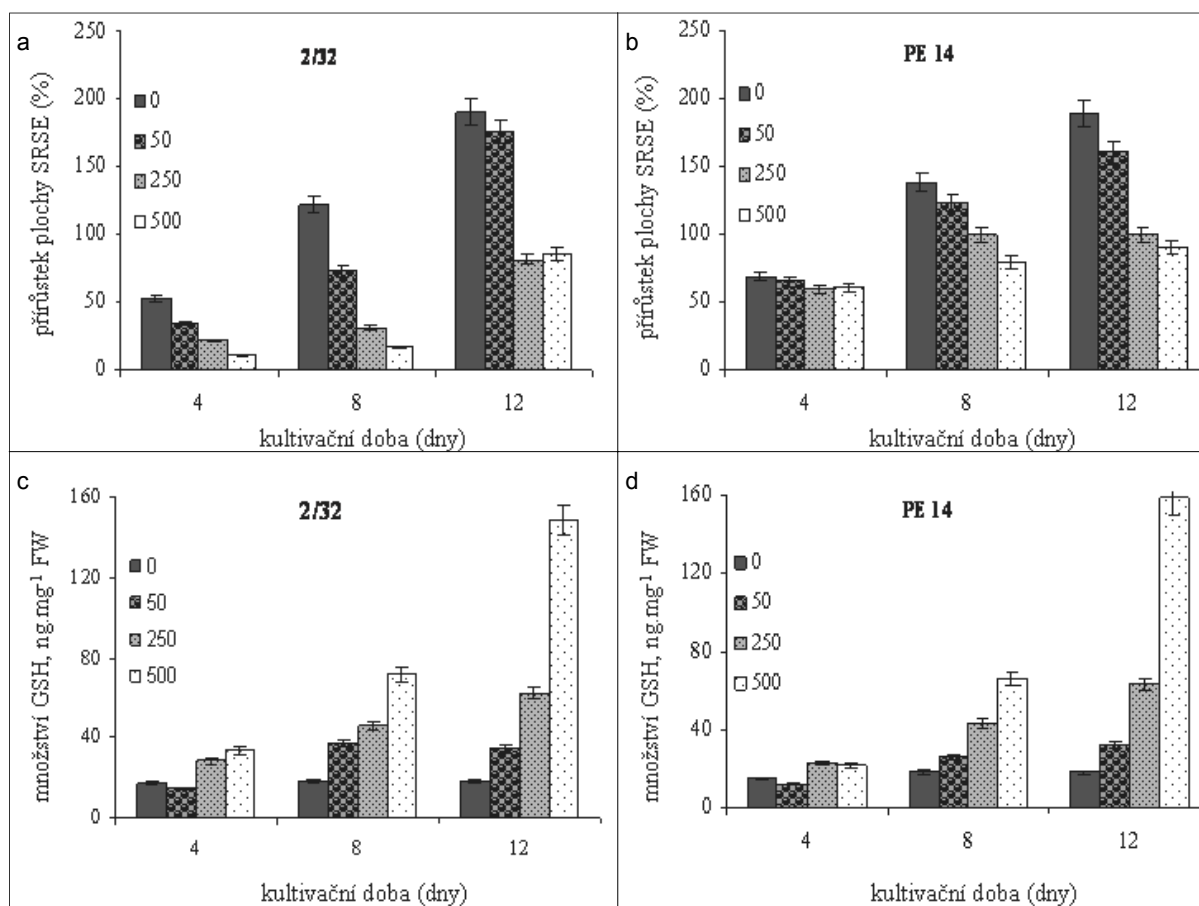
a zeleně zbarvených buněk, tedy buněk mrtvých a živých. Fotografie embryí, která byla barvena PI/FDA a byla následně použita pro výpočet metodou IA, je zobrazena na obr. 5a. Při sledování životnosti RSE smrku ovlivněných Cd-EDTA (50, 250 a 500 μM koncentrace v kultivačním médiu) byl pozorován výrazný pokles životnosti kultury RSE. Již 250 μM Cd-EDTA vedlo k poklesu životnosti na polovinu, avšak koncentrace 500 μM Cd-EDTA usmrtila asi 70 % z celkového počtu RSE (obr. 5b). Tento výsledek potvrdilo i studium aktivity intracelulárních esteras (obr. 5c).

Studium vlivu kadmia na RSE smrku

Těžké kovy jsou díky svým vlastnostem nebezpečnými látkami přítomnými v životním prostředí^{44–49}. Jak již bylo uvedeno výše, vhodným nástrojem pro sledování růstu kultur RSE smrku se ukázala být IA. Na obr. 6a,b je ukázán vliv Cd-EDTA na jednotlivé SRSE smrku ztepilého 2/32 a smrku pichlavého PE 14. Ze zjištěných výsledků lze říci, že se stoupající koncentrací kadmia v kultivačním médiu klesal průměrný přírůstek SRSE. Jak je ze získaných experimentálních výsledků zřejmé, Cd-EDTA půso-



Obr. 5. Sledování životnosti kultury raných somatických embryí smrku pichlavého pomocí fluorescence a enzymatické aktivity; koncentrace kadmia (Cd-EDTA) v kultivačním médiu 0, 50, 250 a 500 μM, 12 dnů kultivace. (a) Vliv Cd-EDTA na životnost RSE; dvojitě barevné fluorescenční barvení. (b) Výpočet životnosti RSE pomocí analýzy obrazu. (c) Stanovení životnosti pomocí aktivity intracelulárních esteraz



Obr. 6. Vliv různých koncentrací kadmia (0, 50, 250 a 500 μM) na růst a obsah glutathionu ve shlucích raných somatických embryí smrku ztepilého, klon 2/32, a smrku pichlavého, klon PE 14. (a) Vliv Cd-EDTA na růst SRSE klonu 2/32 a (b) klonu PE 14. (c) Množství glutathionu u klonu 2/32 a (d) klonu PE 14 ovlivněných kadmíem. Více podrobností naleznete v Obr. 5 a sekci „Materiály a metody“

bila výrazně toxičtěji na klon SRSE 2/32. To je velmi dobře pozorovatelné se vzrůstajícím časem kultivace a rostoucí koncentrací Cd-EDTA (obr. 6a,b). Z výsledků jasně vyplývá, že mezi jednotlivými klony smrku je velmi výrazný rozdíl. Tento fakt pravděpodobně ukazuje na různou schopnost těchto rostlin získat odolnost na environmentální znečištění toxickými sloučeninami, tedy selekční výhodu.

Jak je známo, proti přítomnosti těžkých kovů se rostliny brání syntézou thiolových sloučenin, jako jsou glutathion a fytochelatiny⁴⁴. Ke stanovení thiolových sloučenin lze využít různé analytické metody^{37,50–57}. Pro studium obsahu glutathionu bylo využito elektroanalytické stanovení pomocí adsorptivní přenosové rozpouštěcí diferenční pulzní voltametrie (AdTS DPV) Brdičkovy reakce. Na získaných voltamogramech byly pozorovány elektrochemické odezvy v podobě signálů – Co₁, RS₂Co, Cat₁, Cat₂ a Cat₃. Signál Co₁ odpovídal redukci Co²⁺ na Co⁰ (~–1,0 V), signál označený jako RS₂Co (~–1,0 V) odpovídal komplexu kobaltu s glutathionem (GSH) a další tři katalytické píky Cat₁ (–1,2 V); Cat₂ (–1,3 V) a Cat₃ (–1,4 V) (cit.^{37,38,58}). Redukční signál kobaltu(II), který je pozorován v základním elektrolytu při potenciálu –1,2 V, se posouvá v přítomnosti glutathionu směrem do pozitivních potenciálů. Pozorované změny signálu souvisí s interakcí peptidu se složkami základního elektrolytu za vzniku řady komplexů pravděpodobně i RS₂Co (cit.³⁷). Obsah thiolových sloučenin ve SRSE roste se zvyšující se koncentrací těžkého kovu v kultivačním médiu a s dobou kultivace. Produkce glutathionu byla u obou zkoumaných klonů podobná. U kontrolních variant bez kadmia bylo zjištěno přibližně 18 ng glutathionu na 1 mg svěží hmotnosti kultury. S rostoucí koncentrací chelátu kadmia (Cd-EDTA) a dobou kultivace se zvyšoval obsah glutathionu až na 148 ng mg⁻¹ u klonu 2/32, resp. 158 ng mg⁻¹ u klonu PE 14 (obr. 6c,d). Vzestup hladiny glutathionu souvisí s výraznou toxicitou kadmia, což dokazují také růstové charakteristiky kultur, kde je dobře patrná inhibice jejich růstu vlivem kadmia (obr. 6a,b). Jak je ze získaných dat zřejmé, schopnost RSE přežít v prostředí s vysokými obsahy Cd-EDTA zcela jistě souvisí s aktivací detoxikačních mechanismů vycházejících z glutathionu^{59–61}.

Závěr

Pro zjištění růstových charakteristik bylo využito originální metodiky analýzy obrazu, kterou lze úspěšně sledovat růst a životnost kultury a je tak další alternativou pro sledování kultur v podmínkách *in vitro*. Navíc pomocí elektroanalytických technik byl studován obsah glutathionu u SRSE. Pozorované hladiny glutathionu výrazně vzrůstají a mohou tak souviset s odolností rostlin na environmentální znečištění. Navíc uvedeného postupu by bylo zcela jistě možné využít jako jednoduchého bioindikátoru znečištění prostředí především těžkými kovy, přičemž získané výsledky by mohly umožnit navržení nových genetických modifikací rostlin⁶².

Seznam zkratk

AdTS DPV	adsorptivní přenosová rozpouštěcí diferenční pulzní voltametrie
CCD-kamera	„charge-coupled device“ kamera
DTT	dithiothreitol
EDTA	kyselina ethylendiaminotetraoctová
FDA	fluoresceindiacetát
GSH	redukováný glutathion
HMDE	visící rtuťová kapková elektroda
IA	„image analysis“, analýza obrazu
PI	propidium jodid
RSE	rané somatické embryo
SRSE	shluk raných somatických embryí

Práce na tomto příspěvku byla financována grantem: GAČR 525/04/P132, IGA MZ 1A/8666-3 a Výzkumným centrem IM06030.

LITERATURA

- Petrek J., Vitecek J., Vlasinova H., Kizek R., Kramer K. J., Adam V., Klejdus B., Havel L.: *Anal. Bioanal. Chem.* **383**, 576 (2005).
- Schachar R. A., Kamangar F.: *Eye* **20**, 226 (2006).
- Raadnui S.: *Tribology International* **38**, 871 (2005).
- Valero M. A., Panova M., Mas-Coma S.: *J. Helminthol.* **79**, 217 (2005).
- Faucitano L., Huff P., Teuscher F., Garipey C., Wegner J.: *Meat Sci.* **69**, 537 (2005).
- Carnier P., Gallo L., Romani C., Sturaro E., Bondesan V.: *J. Anim. Sci.* **82**, 808 (2004).
- Ibaraki Y., Kenji K.: *Comput. Electron. Agric.* **30**, 193 (2001).
- Chi C.-M., Vits H., Staba E. J., Cooke T. J., Hu W.-S.: *Biotechnol. Bioenerg.* **44**, 368 (1994).
- Chi C.-M., Zhang C., Steba E. J., Cooke T. J., Hu W.-S.: *Biotechnol. Bioenerg.* **50**, 65 (1996).
- Ibaraki Y., Kurata K.: *Plant Cell Tiss. Org. Cult* **65**, 179 (2001).
- Giri C. C., Shyamkumar B., Anjaneyulu C.: *Trees-Struct. Funct.* **18**, 115 (2004).
- Smiskova A., Vlasinova H., Havel L.: *Biol. Plant.* **49**, 451 (2005).
- Uberall I., Vrana J., Bartos J., Smerda J., Dolezel J., Havel L.: *Biol. Plant.* **48**, 199 (2004).
- Vlasinova H., Mikulecky M., Havel L.: *Biol. Plant.* **47**, 475 (2003).
- Cenklova V., Binarova P., Havel L.: *Biol. Plant.* **46**, 167 (2003).
- Hanacek P., Havel L., Truksa M.: *Biologia* **57**, 517 (2002).
- Vlasinova H., Havel L.: *J. Plant Physiol.* **154**, 212 (1999).
- Havel L., Novak F. J.: *J. Plant Physiol.* **132**, 373 (1988).
- Bhansali R. R., Driver J., Durzan D. J.: *J. Horticult. Sci.* **66**, 601 (1991).

20. Bhansali R. R., Driver J. A., Durzan D. J.: *Plant Cell Rep.* 9, 280 (1990).
21. Durzan D. J., Gupta P. K.: *Plant Sci.* 52, 229 (1987).
22. Gupta P. K., Durzan D. J., Finkle B. J.: *Can. J. For. Res.-Rev. Can. Rech. For.* 17, 1130 (1987).
23. Gupta P. K., Durzan D. J.: *Bio-Technology* 5, 147 (1987).
24. Durzan D. J.: *In Vitro Cell Develop. Biol.* 21, A56 (1985).
25. Olofsdotter M.: *Plant Cell Rep.* 12, 216 (1993).
26. von Arnold S. J.: *Plant Physiol.* 127, 233 (1987).
27. Havel L., Durzan D. J.: *Int. J. Plant Sci.* 157, 8 (1996).
28. Lopez M. L., Peralta-Videa J. R., Benitez T., Gardea-Torresdey J. L.: *Chemosphere* 61, 595 (2005).
29. Collins R. N., Onisko B. C., McLaughlin M. J., Merrington G.: *Environ. Sci. Technol.* 35, 2589 (2001).
30. Laurie S. H., Tancock N. P., McGrath S. P., Sanders J. R.: *Plant Sci.* 109, 231 (1995).
31. Vassil A. D., Kapulnik Y., Raskin I., Salt D. E.: *Plant Physiol.* 117, 447 (1998).
32. Jones K. H., Senft J. A.: *J. Histochem. Cytochem.* 33, 77 (1985).
33. Mlejnek P., Prochazka S.: *Planta* 215, 158 (2002).
34. Vitecek J., Adam V., Petrek J., Babula P., Novotna P., Kizek R., Havel L.: *Chem. Listy* 99, 496 (2005).
35. Vitecek J., Petrlova J., Petrek J., Adam V., Havel L., Kramer K. J., Kizek R.: *Biol. Plant.* 51, 551 (2007).
36. Vitecek J., Adam V., Petrek J., Vacek J., Kizek R., Havel L.: *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 79, 195 (2004).
37. Kizek R., Vacek J., Trnkova L., Klejdus B., Havel L.: *Chem. Listy* 98, 166 (2004).
38. Vacek J., Petrek J., Kizek R., Havel L., Klejdus B., Trnkova L., Jelen F.: *Bioelectrochemistry* 63, 347 (2004).
39. Zehnalek J., Adam V., Kizek R.: *Chem. Listy* 100, 508 (2006).
40. Gupta P. K., Durzan D. J.: *Bio-Technol.* 4, 643 (1986).
41. Durzan D. J., Jokinen K., Guerra M. P., Santerre A., Chalupa V., Havel L.: *Int. J. Plant Sci.* 155, 677 (1994).
42. Durzan D. J.: *Int. J. Plant Sci.* 157, 17 (1996).
43. Havel L., Durzan D. J.: *Bot. Acta* 109, 268 (1996).
44. Zehnalek J., Adam V., Kizek R.: *Lis. Cukrov. Reparske* 120, 222 (2004).
45. Potesil D., Petrlova J., Adam V., Vacek J., Klejdus B., Zehnalek J., Trnkova L., Havel L., Kizek R.: *J. Chromatogr., A* 1084, 134 (2005).
46. Zehnalek J., Vacek J., Kizek R.: *Lis. Cukrov. Reparske* 120, 220 (2004).
47. Kafka Z., Puncocharova J.: *Chem. Listy* 96, 611 (2002).
48. Kafka Z., Cudova P.: *Chem. Listy* 95, 400 (2001).
49. Prochackova T., Foltin M.: *Chem. Listy* 89, 770 (1995).
50. Vodickova H., Pacakova V., Sestakova I., Mader P.: *Chem. Listy* 95, 477 (2001).
51. Fojta M., Fojtova M., Havran L., Pivonkova H., Dorcak V., Sestakova I.: *Anal. Chim. Acta* 558, 171 (2006).
52. Dorcak V., Sestakova I.: *Bioelectrochemistry* 68, 14 (2006).
53. Sestakova I., Navratil T.: *Bioinorg. Chem. Appl.* 3, 43 (2005).
54. Yosypchuk B., Sestakova I., Novotny L.: *Talanta* 59, 1253 (2003).
55. Dabrio M., Rodriguez A. R., Bordin G., Bebianno M. J., De Ley M., Sestakova I., Vasak M., Nordberg M.: *J. Inorg. Biochem.* 88, 123 (2002).
56. Sestakova I., Vodickova H., Mader P.: *Electroanalysis* 10, 764 (1998).
57. Petrlova J., Mikelova R., Stejskal K., Kleckerova A., Zitka O., Petrek J., Havel L., Zehnalek J., Adam V., Trnkova L., Kizek R.: *J. Sep. Sci.* 29, 1166 (2006).
58. Brazdova M., Kizek R., Havran L., Palecek E.: *Bioelectrochemistry* 55, 115 (2002).
59. Adam V., Zehnalek J., Petrlova J., Potesil D., Sures B., Trnkova L., Jelen F., Vitecek J., Kizek R.: *Sensors* 5, 70 (2005).
60. Klejdus B., Zehnalek J., Adam V., Petrek J., Kizek R., Vacek J., Trnkova L., Rozik R., Havel L., Kuban V.: *Anal. Chim. Acta* 520, 117 (2004).
61. Kizek R., Vacek J., Trnkova L., Klejdus B., Kuban V.: *Chem. Listy* 97, 1003 (2003).
62. Macek T., Mackova M., Truksa M., Cundy A. S., Kotrba P., Yancey N., Schouten W. H.: *Chem. Listy* 90, 690 (1996).

J. Petřek^a, J. Baloun^{a,b}, H. Vlašínová^a, L. Havel^a, V. Adam^{b,c}, J. Vítěček^a, P. Babula^d, and R. Kizek^b
^aDepartment of Plant Biology and ^bDepartment of Chemistry and Biochemistry, Mendel University of Agriculture and Forestry, Brno, ^cDepartment of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Masaryk University, Brno, ^dDepartment of Natural Drugs, Veterinary and Pharmaceutical University, Brno): **Image Analysis and Activity of Intracellular Esterases as New Analytical Tools for Determination of Growth and Viability of Embryonic Cultures of Spruce (*Picea* sp.) Treated with Cadmium**

Introduction

Image analysis (IA) of plant structures is technique, which enables us to quantify growth and morphological changes. IA is a non-destructive, sterile and simple method.

Material and methods

We utilized CCD-camera, and GRAB-IT and Image-Pro software to digitalize of the images. CCD-camera determined the area of the clusters with deviation of 0.31 % (n=10). IA was utilized for determination of growth of early somatic embryos (ESEs) of spruce. Moreover, IA in connection with double staining can be used for the deter-

mination of viability of the culture. These techniques have been utilized for investigation of the influence of Cd-EDTA (50, 250 and 500 $\mu\text{mol l}^{-1}$) on spruce cultures for twelve days.

Conclusion

We found out that increase in cluster area decreased and number of dead cells increased with elevating concentration of cadmium and time of treatment. Glutathione content has been studied by means of adsorptive transfer stripping differential pulse voltammetry Brdicka reaction. We observed that the content of glutathione was nine times higher in ESEs treated by Cd-EDTA (500 $\mu\text{mol l}^{-1}$) after twelve days in comparison with control ones.

Česká společnost chemická a Ústav chemie a technologie sacharidů VŠCHT Praha

pořádají

konferenci „Polysacharidy III“

Datum a místo konání: 16.11.2007, 8,30 až 16,00 h na Novotného lávce 5, Praha 1

Konference bude zaměřena na průmyslovou výrobu a využití polysacharidů, výskyt, vlastnosti a strukturu biologicky aktivních polysacharidů a deriváty polysacharidů.

Uzávěrka přihlášek je 15. září 2007.

Předpokládá se zájem účastníků a společností bez odborného příspěvku.

Úvodní přednáška: RNDr. Desana Lišková PhD., Chemický ústav SAV Bratislava

Vplyv galaktoglukomananových oligosacharidov (GGMOs) na vývoj rastlín a účasť v obranných reakciách

Vložené:

Člen ČSCH nebo SCHS 700 Kč, ostatní 800 Kč. Po 15. září 2007 činí vložné 1000 Kč.

Vložené zahrnuje: CD s plnými texty přednášek (bude obsahovat ISBN), výtisk Chemických listů č. 9 s abstrakty přednášek a posterů, občerstvení a organizační náklady.

Je možné zajistit ubytování na kolejičkách na Jižním městě.

Vědecký výbor

Doc. Ing. Jana Čopíková, CSc. – Ústav chemie a technologie sacharidů VŠCHT Praha

Ing. Evžen Šárka, CSc. – Ústav chemie a technologie sacharidů VŠCHT Praha

RNDr. Vladimír Erban, CSc. – Výzkumný ústav potravinářský Praha

Prof. Milan Marounek, DrSc. – Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR

Ing. Miroslav Novák, CSc. – Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

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

Kontaktní adresa: Česká společnost chemická, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1,

tel.: 221 082 370, tel/fax: 222 220 184, e-mail: chem.listy@csvts.cz, chem.spol@csvts.cz

HPLC STANOVENÍ OBSAHU VITAMINU E V KRMNÝCH SUROVINÁCH, KRMIVECH A POTRAVINÁCH

ROMANA HOSMANOVÁ^a a MICHAL DOUŠA^b

^a Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Brno,
Národní referenční laboratoř Plzeň, Slovanská alej 20,
317 60 Plzeň, ^b Zentiva, a.s. Praha, U Kabelovny 130,
102 37 Praha
michal.dousa@hplc.cz

Došlo 19.4.05, přepracováno 2.6.06, přijato 31.8.06.

Klíčová slova: HPLC, vitamin E, krmiva, potraviny

Úvod

Vitamin E společně s vitaminy A, D a K se historicky zařazuje mezi vitaminy rozpustné v tucích (tzv. lipofilní vitaminy). Je to významný antioxidant, chrání lipidy buněčných membrán před poškozením volnými radikály a pravděpodobně se na struktuře membrán přímo podílí. Uplatňuje se také při ochraně lipoproteinů přítomných v plazmě. Strukturálním základem, který je společný všem sloučeninám vykazujícím aktivitu vitaminu E (tzv. vitagenům E), jsou tokol (2-methyl-2-(4,8,12-trimethyltridecylchroman-6-ol) a tokotrienol (2-methyl-2-(4,8,12-trimethyltrideka-3,7,11-trien-1-ylchroman-6-ol), které obsahují chromanový kruh s nasyceným (tokoferoly) nebo nenasyceným (tokotrienoly) isoprenoidním postranním řetězcem¹. Jednotlivé tokoferoly a tokotrienoly se liší polohou a počtem methylových skupin v chromanovém kruhu. K obecným zdrojům vitaminu E patří rostlinné oleje, pšeničné klíčky, sója a v menší míře i obiloviny. V přírodě se nacházejí pouze (+)-tokoferoly, synteticky připravené jsou vždy racemické (±). (+)-Tokoferoly (T) a (+)-tokotrienoly (TT) se liší svou biologickou účinností, přičemž poměry účinnosti jednotlivých sloučenin jsou následující²: α -T: β -T: γ -T: δ -T: α -TT: β -TT = 100 : 25–40 : 5–8 : 1 : 29 : 5. Podle NRC (National Research Council, USA) se definuje aktivita vitaminů E v potravinách jako ekvivalent α -tokoferolu (α -TE). Jeho hodnota se vypočítá tak, že k obsahu (+)- α -tokoferolu (mg) jsou přičteny hodnoty obsahů (mg) ostatních tokoferolů a tokotrienolů přepočtené pomocí následujících koeficientů: pro (+)- β -tokoferol: mg x 0,5; pro (+)- γ -tokoferol: mg x 0,1; pro (+)- δ -tokoferol: mg x 0,01; pro (+)- α -tokotrienol: mg x 0,3 a pro (+)- β -tokotrienol: mg x 0,05. Mezinárodní jednotka vitaminu E (m.j.) je definována jako 1 mg (±)- α -tokoferol-acetátu. Pro přepočet m.j. mezi jednotlivými formami vita-

minu E platí: (+)- α -tokoferol : (±)- α -tokoferol : (+)- α -tokoferol-acetát : (±)- α -tokoferol-acetát : (+)- α -tokoferol-sukcinát = 0,92 : 0,68 : 1,36 : 1,00 : 1,31.

Potřeba vitaminu E v lidské výživě je dostatečně pokryta denním příjmem pestré stravy. Ve výživě hospodářských i domácích zvířat je v současné době potřeba vitaminu E zajištěna jeho dávkováním do krmiv, nejčastěji ve formě acetátu α -tokoferolu.

Stanovení vitaminu E zahrnuje následující kroky: přípravu vzorku, alkalickou hydrolyzu, extrakci vitaminu E a vlastní analytické stanovení metodou HPLC. K separaci tokoferolů a tokotrienolů se může použít jak rozdělení v normálním módu (obvykle na silikagelové stacionární fázi), tak rozdělení v reverzním módu (obvykle na stacionární fázi C18). Při analýze s normálními fázemi může být separováno až 8 tokoferolů a tokotrienolů v isokratickém módu s mobilní fází hexan-tetrahydrofuran (99,5:0,5) (cit.^{3,4}) nebo hexan-diethylether (95:5) (cit.⁵). Jako oficiální metoda EU stanovení vitaminu E v krmivech je doporučena metoda HPLC, která vychází z původních metod stanovení vitaminu E v krmivech a premixech^{6,7}. K separaci vitaminu E dochází na silikagelu za použití mobilní fáze o složení hexan–1,4-dioxan (97:3) s fluorescenční detekcí⁸. V současné době se při stanovení celkového obsahu α -tokoferolu v krmivech a potravinách dává přednost reverzní fázi⁹ i když, jak již bylo řečeno, ke stanovení všech forem tokoferolů je nezbytné použití silikagelové stacionární fáze¹⁰. V české krmivářské legislativě je silikagelová fáze doporučena jako alternativa k reverzní fázi za použití mobilní fáze cyklohexan–ethanol (98,5:1,5) (cit.¹¹). Oproti ostatním publikovaným mobilním fázím^{3–5} je eluční schopnost této mobilní fáze zvýšena kvůli stanovení α -tokoferolu, čímž se dosáhne i snížení doby analýzy. Dále se podle platné české legislativy^{12,13} do obsahu vitaminu E vůbec nezapočítává příspěvek dalších tokoferolů a tokotrienolů, přestože mají významný vliv na celkový obsah vitaminu E (vyjádřený jako ekvivalent α -tokoferolu).

Protože správné a přesné vyjádření obsahu vitaminu E v krmivech a potravinách je poměrně složité, je cílem předkládané práce porovnat obsah vitaminu E vyjádřený jako α -tokoferol oproti obsahu vyjádřenému na základě ekvivalentu α -tokoferolu, porovnat analytické metody (stanovení na reverzní fázi a na silikagelu), analyzovat reálné vzorky a stanovit v nich koncentraci vitaminu E podle současně platné legislativy. Součástí práce je také rozbor mezilaboratorní porovnávací zkoušky stanovení vitaminu E.

Experimentální část

Přístroje a zařízení

Alkalická hydrolyza byla provedena na rotační třepačce RT01 (BMF, Česká republika). Hexanový extrakt byl odpařen na rotační vakuové odparce RVO A400

(Ingos, Česká republika). K zkoncentrování extraktů se používal koncentrátor vzorků Termovap (Ecom, Česká republika). Odstředění extraktu bylo provedeno na laboratorní odstředivce Hermle Z 230 MR (Hermle, SRN). Všechna měření byla uskutečněna na kapalinovém chromatografu (Waters, USA), který se skládal z vysokotlakého čerpadla W515, fluorimetrického detektoru W487 a datastanice PC Compaq. Byly použity kolony NovaPak C18, 4 μm , 3,9 \times 150 mm a NovaPak Silica 4 μm , 2,1 \times 150 mm (Waters, USA).

Chemikálie a vzorky

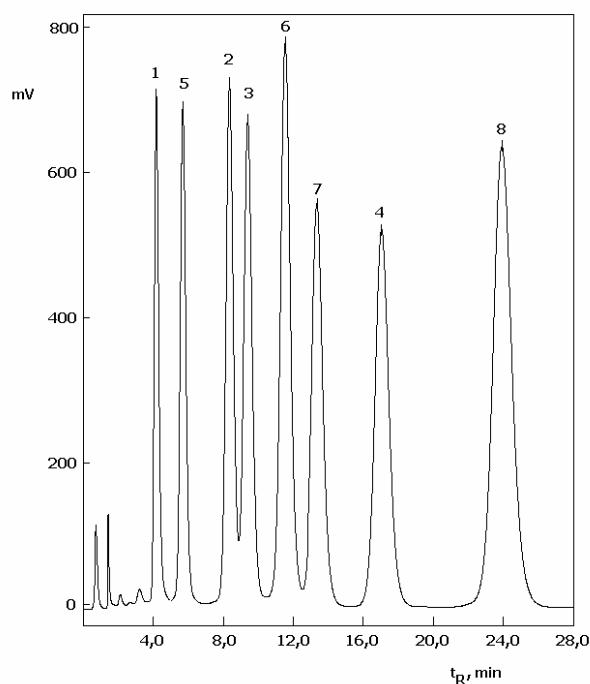
Byly použity methanol, tetrahydrofuran a cyklohexan, čistoty HPLC grade (J. T. Baker, USA) a absolutní ethanol pro UV (Merck, SRN). Ostatní chemikálie byly čistoty p.a. (Lach-Ner, Česká republika). Základní roztoky tokoferolů a tokotrienolů o přibližné koncentraci 500 mg l^{-1} byly připraveny rozpuštěním α -, β -, γ -, δ -tokoferolu a α -, β -, γ -, δ -tokotrienolu (Calbiochem Chemicals, Francie) s deklarovaným obsahem v hexanu. Přesná koncentrace základních roztoků byla stanovena spektrofotometricky. Byla použita 1 cm kyveta a měření probíhalo v absorpčních maximech jednotlivých tokoferolů a tokotrienolů. Kalibrační roztoky o koncentraci 1,0 až 10,0 mg l^{-1} α -, β -, γ -, δ -tokoferolu a α -, β -, γ -, δ -tokotrienolu byly připraveny postupným ředěním základního roztoku methanolem resp. cyklohexanem. Mobilní fáze byly připraveny tyto: mobilní fáze A: cyklohexan–tetrahydrofuran (99,6:0,4), mobilní fáze B: cyklohexan–ethanol (98,5:1,5) a mobilní fáze C: methanol–voda (98:2). K hydrolyze vzorku se používal 60% roztok hydroxidu draselného v roztoku ethanol–voda (1:2). Byly analyzovány suroviny pro výrobu krmiv a krmné směsi odebrané v rámci státního odborného dozoru (zákon o krmivech §16 a §17)¹² a dále komerčně dostupné potraviny (oleje, obiloviny, sušené mléko a další produkty).

Pracovní postup

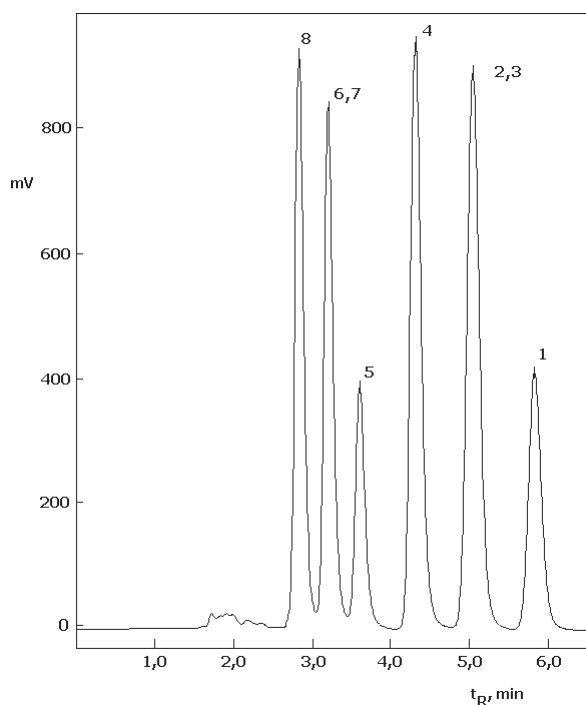
Všechny tuhé vzorky byly upraveny homogenizací a mletím na částice o velikosti 0,5 mm. Mletí bylo provedeno tak, aby se vzorek nezahřival. K 80 g tuhého zkušební vzorku (nebo 2 g oleje) se přidalo 320 ml roztoku ethanol–voda (1:2), 90 ml 60% roztoku KOH, 750 mg kyseliny L-askorbové, 500 mg hydrochinonu a 500 mg EDTA. Směs se hydrolyzovala v 1000 ml kónické baňce na rotační laboratorní třepačce za laboratorní teploty přes noc. Po extrakci se odpipetovalo 50 ml hydrolyzátu, který se extrahoval 4 krát 80 ml hexanu. Spojený hexanový extrakt se vysušil přefiltrováním přes vrstvu bezvodého síranu sodného a odpařil na rotační vakuové odparce při 50 °C na objem 10 ml, který byl kvantitativně převeden do 25 ml odměrné baňky a doplněn hexanem. Tento extrakt se použil přímo k měření s normální fází. V případě měření s reverzní fází se z tohoto extraktu odpipetoval objem 5 ml, který se odpařil pod proudem dusíku při 45 °C

Tabulka I
HPLC podmínky pro stanovení vitamínu E

Parametr	Normální systém	Reverzní systém
Kolona	Silica NovaPak, 150 \times 2,1 mm, 4 μm	NovaPak C18, 150 \times 3,9 mm, 4 μm
Průtok mobilní fáze	0,9 ml min^{-1}	1,0 ml min^{-1}
Mobilní fáze	cyklohexan–tetrahydrofuran (99,6 : 0,4)	methanol–voda (98 : 2)
Teplota kolony	40 °C	30 °C
Objem nástřiku	40 μl	10 μl
Vlnová délka při fluorescenční detekci		excitační: 292 nm; emisní: 330 nm



Obr. 1. Chromatografická separace tokoferolů na normální fází (Silikagel); 1: α -tokoferol; 2: β -tokoferol; 3: γ -tokoferol; 4: δ -tokoferol; 5: α -tokotrienol; 6: β -tokotrienol; 7: γ -tokotrienol; 8: δ -tokotrienol. Směsný kalibrační standard 4 mg l^{-1} . Kolona: Silica NovaPak, 150 \times 2,1 mm, 4 μm , mobilní fáze: cyklohexan–tetrahydrofuran (99,6 : 0,4), 0,9 ml min^{-1} , vlnová délka při fluorescenční detekci: excitační: 292 nm, emisní: 330 nm



Obr. 2. Chromatografická separace tokoferolů na reverzní fázi (C18); 1: α -tokoferol; 2: β -tokoferol; 3: γ -tokoferol; 4: δ -tokoferol; 5: α -tokotrienol; 6: β -tokotrienol; 7: γ -tokotrienol; 8: δ -tokotrienol. Směsný kalibrační standard 4 mg l^{-1} . Kolona: Nova-Pak C18, $150 \times 3,9 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$, mobilní fáze: methanol–voda (98 : 2), 1 ml min^{-1} , vlnová délka při fluorescenční detekci: excitační: 292 nm, emisní: 330 nm

k suchu a odparek se rozpustil v 5 ml methanolu. Takto připravený extrakt se použil přímo k měření s reverzní fázi. Chromatografické podmínky jsou uvedeny v tab. I.

Výsledky a diskuse

V normálním systému, na koloně silikagel, se rozdělily všechny tokoferoly a tokotrienoly. Pořadí analytů bylo následující α -T, α -TT, β -T, γ -T, β -TT, γ -TT, δ -T a δ -TT (obr. 1), kritickým bodem analýzy bylo rozdělení β - a γ -tokoferolu, kde bylo nakonec dosaženo rozlišení $R_{2,3}=1,29$. V reverzním systému, na koloně C18 se nepodařilo za použitých experimentálních podmínek rozdělit γ - a β -tokoferol a γ - a β -tokotrienol. Analyty se separovaly v pořadí: δ -TT, $(\gamma+\beta)$ -TT, α -TT, δ -T, $(\gamma+\beta)$ -T a α -T (obr. 2) Získané obsahy vitaminů E v surovinách (ze dvou odebraných vzorků a dvou paralelních stanovení), krmných směsích (z jednoho odebraného vzorku a dvou paralelních stanovení) a potravinách (z jednoho vzorku a dvou paralelních stanovení) jsou uvedeny v tab. II–IV. Meze stanovitelnosti pro všechny vitaminy E byly vypočteny

jako desetinásobek šumu základní linie a ležely v intervalu od 0,15 do $0,32 \text{ mg kg}^{-1}$. Pro účely této studie bylo rozhodnuto zařazovat do vyhodnocení výsledky od $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$ pro všechny vitaminy E.

Porovnání obsahu α -tokoferolu a α -TE

Nalezené obsahy vitaminu E byly přepočteny podle doporučení NRC na α -TE a ty byly porovnány s hodnotami α -tokoferolu získanými podle platných předpisů České republiky¹². Z obsahů vitaminu E v potravinách a krmných surovinách je zřejmé, že v celkové biologické účinnosti vitaminu E hraje významnou úlohu obsah všech tokoferolů a tokotrienolů. K tomu přispívá zejména obsah α -tokotrienolu (pšeničné a žitné otruby, ječmen v krmných surovinách, ječné a žitné vločky v potravinách), jinde naopak obsah γ -tokoferolu (hrách, peluška v krmných surovinách, lněné semínko, pohanka, fazole, čočka a vlašské ořechy v potravinách). Příspěvek ostatních tokoferolů a tokotrienolů k účinnosti α -TE je zanedbatelný. Podle očekávání je pak nejmenší příspěvek tokoferolů a tokotrienolů k účinnosti α -TE u krmných směsí. Je to způsobeno přidávkem α -tokoferolu (ve formě premixu) v takovém nadbytku, že přepočet na α -TE je nevýznamný. Proto je také vyjádření obsahu vitaminu E (jako α -tokoferolu) podle právních předpisů v krmných směsích dostatečné. Výjimku tvoří krmné směsi s převládajícím podílem pšenice (40 %) nebo ječmene (30–45 %). Tyto plodiny mají vysoký obsah α -tokotrienolu a pak se v celkovém obsahu vitaminu E tento příspěvek α -tokotrienolu projeví (krmná směs pro výkrm prasat A1 a krmná směs pro předvýkrm prasat CDP). U ostatních krmných směsí se ječmen nevyskytuje vůbec nebo jen ve velmi nízkém zastoupení.

Porovnání stacionárních fází

Byly porovnány obsahy tokoferolů a tokotrienolů získané na jednotlivých stacionárních fázích (u kritických tokoferolů a tokotrienolů jako jejich suma – $(\gamma+\beta)$ -tokoferol a $(\gamma+\beta)$ -tokotrienol). Při srovnání obsahu α -tokoferolu a α -tokotrienolu jsou výsledky na obou stacionárních fázích srovnatelné, výrazné rozdíly byly nalezeny v obsahu $(\gamma+\beta)$ -tokoferolu a $(\gamma+\beta)$ -tokotrienolu u některých krmných surovin a potravin. Jednalo se o plodiny z čeledi *Fabaceae* (bob, čočka, hrách, peluška) a o produkty z pšenice (celé zrnko, mouka, vločky, klíčky). S největší pravděpodobností dochází na silikagelu ke koe-luci neznámé interferující látky obsažené právě v těchto komoditách. Tato látka však nebyla identifikována.

Mezilaboratorní porovnávací zkouška

Mezilaboratorní porovnávací zkoušku stanovení vitaminu E (jako α -tokoferolu) organizoval Ústřední kontrolní a zkušební ústav se sídlem v Brně. Jako vzorky byly analyzovány premix doplňkových látek pro nosnice a krmná

Tabulka II
Obsah tokoferolů (T) a tokotrienolů (TT) v krmných surovinách

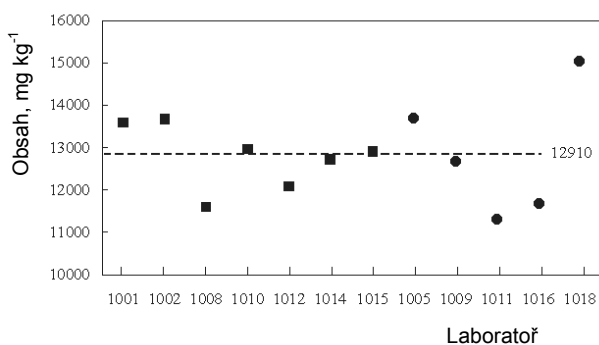
Krmná surovina	Obsah [mg kg ⁻¹]								
	α-T	β-T	γ-T	δ-T	α-TT	β-TT	γ-TT	δ-TT	α-TE
Kukuřice	12,0	0,6	34,1	1,0	11,3	1,5	23,3	0,8	19,2
Pšeničné klíčky mačkané	186,5	61,6	1,2	< 0,3	5,9	27,8	< 0,3	< 0,3	220,5
Žitné otruby	8,3	2,7	< 0,3	< 0,3	60,0	38,8	< 0,3	< 0,3	29,6
Pšeničné otruby	27,7	12,5	0,6	< 0,3	28,4	81,8	< 0,3	< 0,3	71,8
Sladový květ	16,1	1,0	5,2	< 0,3	10,3	3,2	4,9	< 0,3	20,3
Slunečnicový šrot	10,8	0,7	0,4	< 0,3	0,8	1,7	< 0,3	< 0,3	11,6
Pšenice	10,0	4,4	0,2	< 0,3	6,0	27,6	< 0,3	< 0,3	15,4
Ječmen	8,2	0,3	2,3	< 0,3	42,1	5,5	12,5	< 0,3	21,5
Žito	11,5	2,5	0,4	< 0,3	19,4	13,5	4,0	< 0,3	19,2
Řepkový šrot	16,1	0,6	7,9	< 0,3	< 0,3	13,7	< 0,3	< 0,3	17,8
Řepkové výlisky	60,1	0,6	41,7	< 0,3	< 0,3	28,3	< 0,3	< 0,3	66,0
Sojový extrahovaný šrot	3,2	0,2	8,0	2,3	< 0,3	0,7	< 0,3	< 0,3	4,2
Vojtěšková moučka	50,0	0,8	1,8	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	50,6
Ovesné vločky	9,8	0,9	0,4	< 0,3	33,1	3,4	< 0,3	< 0,3	20,3
Hrách	1,0	< 0,3	56,3	1,1	< 0,3	1,6	2,1	< 0,3	6,7
Bob koňský	11,7	< 0,3	40,1	1,0	< 0,3	1,9	3,0	< 0,3	15,8
Peluška	1,1	< 0,3	55,8	1,2	< 0,3	2,7	2,0	< 0,3	6,9

Tabulka III
Obsah tokoferolů (T) a tokotrienolů (TT) v krmných směsích (KS)

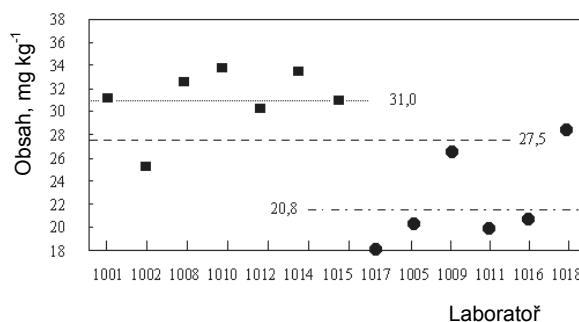
Krmná směs	Obsah [mg kg ⁻¹]								
	α-T	β-T	γ-T	δ-T	α-TT	β-TT	γ-TT	δ-TT	α-TE
Pro výkrm prasat A1	10,7	2,4	3,8	< 0,3	14,3	19,7	4,2	< 0,3	17,6
Pro kojící prasnice	47,6	1,9	4,2	0,8	9,6	10,1	4,2	< 0,3	52,3
Pro předvýkrm prasat CDP	22,6	1,9	3,9	0,5	17,4	11,8	6,1	< 0,3	29,8
Doplňková pro koně	86,8	1,6	5,9	0,9	12,8	13,0	5,6	0,8	92,7
Mléčná TELASAN	64,2	0,5	0,8	< 0,3	14,7	2,4	33,8	1,9	69,0
Mléčná MILSAN	92,4	0,6	6,1	< 0,3	22,1	8,0	33,9	1,8	100,4
KS BR1	49,5	2,2	9,6	1,7	6,4	12,8	3,5	< 0,3	54,1
KS BR2	53,6	1,6	9,2	0,6	13,2	10,3	4,7	< 0,3	57,9
Pro březí prasnice	54,1	2,7	8,2	0,6	17,8	13,3	7,1	< 0,3	62,3
Doplňková pro výkrm býků	47,2	2,0	18,9	0,8	15,7	18,6	4,5	< 0,3	55,7

směs pro kojící prasnice. Do statistického zpracování byly použity vždy průměry ze dvou stanovení. Mezilaboratorní porovnávací zkoušky se zúčastnilo 14 laboratoří a součástí vyhodnocení bylo i sledování analytické techniky (stacionární fáze a způsob detekce). V reverzním systému byla použita mobilní fáze C (cit.¹¹), v normálním systému mobilní fáze B (cit.¹¹). Protože jedna laboratoř použitý chromatografický systém neuvedla, nebyla do následující-

ho hodnocení zařazena. Výsledky mezilaboratorní porovnávací zkoušky jsou zobrazeny na obr. 3 a 4. U obsahů vitamínu E v premixu nebyly pozorovány žádné trendy a výsledky jsou rovnoměrně rozloženy kolem mediánu pro obě stacionární fáze (obr. 3). Naopak výrazné trendy byly pozorovány u obsahů vitamínu E pro krmnou směs. Výsledky získané na normální fázi se pohybují okolo mediánu 31,0 mg kg⁻¹, výsledky získané na reverzní fázi okolo



Obr. 3. Mezilaboratorní porovnávací zkouška stanovení obsahu vitamínu E v premixu doplňkových látek pro nosnice; ■ normální mód, ● reverzní mód, --- medián souboru



Obr. 4. Mezilaboratorní porovnávací zkouška stanovení obsahu vitamínu E v krmné směsi pro kojící prasnice; ■ normální mód, ● reverzní mód, --- medián souboru, medián hodnot získaných v normálním módu, medián hodnot získaných v reverzním módu

Tabulka IV
Obsah tokoferolů (T) a tokotrienolů (TT) v potravinách

Potravina	Obsah [mg kg^{-1}]								
	α -T	β -T	γ -T	δ -T	α -TT	β -TT	γ -TT	δ -TT	α -TE
Pšeničná mouka	2,8	2,4	< 0,3	< 0,3	2,7	14,0	< 0,3	< 0,3	5,5
Rýže obyčejná	2,5	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	6,8	< 0,3	2,5
Rýže hnědá	8,7	2,1	2,6	< 0,3	8,8	< 0,3	28,1	3,4	12,7
Rýže parboild	2,1	< 0,3	< 0,3	< 0,3	2,5	< 0,3	7,5	< 0,3	2,9
Fazole bílé	0,9	< 0,3	38,3	1,9	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	4,7
Čočka	9,0	< 0,3	41,4	1,0	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	13,2
Soja	14,7	1,7	90,1	15,2	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	24,7
Olej olivový	134	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	134
Olej řepkový	202	< 0,3	81,4	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	210
Olej sojový	144	15,2	196	18,7	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	171
Olej slunečnice	477	12,6	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	483
Jáhly proso	2,0	< 0,3	8,2	3,6	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	2,9
Pohanka	3,9	< 0,3	49,1	2,1	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	8,8
Vločky pšeničné	5,2	3,2	< 0,3	< 0,3	5,3	19,2	< 0,3	< 0,3	9,3
Vločky žitné	3,2	1,1	< 0,3	< 0,3	13,1	9,9	< 0,3	< 0,3	8,1
Vločky ječné	2,3	< 0,3	0,9	0,7	22,9	4,0	9,5	1,2	9,4
Sušené mléko plnotučné	4,1	< 0,3	0,6	< 0,3	0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	4,3
Sušené mléko odtučněné	0,8	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	0,8
Ořechy vlašské	8,3	< 0,3	58,2	3,1	< 0,3	< 0,3	1,0	< 0,3	14,2
Ořechy lískové	129	2,7	25,6	1,0	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	132,9
Mák	9,8	< 0,3	31,7	< 0,3	< 0,3	< 0,3	1,4	< 0,3	13,0
Lněné semínko	2,0	< 0,3	87,3	0,8	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	10,7

mediánu $20,8 \text{ mg kg}^{-1}$, přičemž medián všech výsledků je $27,5 \text{ mg kg}^{-1}$ a žádný z výsledků nebyl označen jako odlehlý (obr. 4). Ke zjištění příčiny rozdílu výsledků krmné směsi na normální a reverzní fázi byla tato směs opětovně analyzována. Hexanový extrakt směsi byl změřen jednak

na normální fázi s mobilní fází A a mobilní fází B a dále na reverzní fázi s mobilní fází C. Získané hodnoty jsou uvedeny v tab. V. Z porovnání vyplývá, že eluční schopnost mobilní fáze B je natolik velká, že se na silikagelu eluují spolu α -tokoferol a α -tokotrienol, což způsobuje

Tabulka V

Obsahy α -tokoferolu a α -tokotrienolu v krmné směsi pro kojící prasnice získané v různých chromatografických systémech

Stacionární fáze/mobilní fáze	Obsah [mg kg ⁻¹]	
	α -tokoferol	α -tokotrienol
Silikagel/cyklohexan-tetrahydrofuran (99,6:0,4)	16,5	14,6
Silikagel/cyklohexan-ethanol (98,5:1,5)	29,8	–
C18/methanol-voda (98:2)	18,1	14,7

vyšší výsledky u krmné směsi na normální fázi v mezilaboratorní porovnávací zkoušce. U testovaného premixu tato situace nenastala, neboť analyzovaný vitamin E je zastoupen pouze α -tokoferolem.

Závěr

Z nalezených obsahů vitaminu E v surovinách vyplývá, že obsah všech tokoferolů a tokotrienolů hraje významnou roli v celkové biologické účinnosti vitaminu E (vyjádřená jako ekvivalent α -tokoferolu) v potravinách i krmných surovinách pro výrobu krmných směsí. Podle druhu suroviny pak na účinnost má největší vliv vysoký obsah α -tokotrienolu resp. γ -tokoferolu. Příspěvek ostatních tokoferolů a tokotrienolů k ekvivalentu α -tokoferolu je většinou zanedbatelný. U finálních krmiv je naopak příspěvek těchto tokoferolů a tokotrienolů zanedbatelný a největší roli hraje vysoký obsah přidaného α -tokoferolu. Při analýze vitaminu E na normální fázi je třeba použít mobilní fázi takové eluční schopnosti, aby nedocházelo ke koeluci α -tokoferolu s α -tokotrienolem, pokud je ve vzorku přítomen.

LITERATURA

1. Velišek J.: *Chemie potravin 2*, str. 51. OSSI, Tábor 1999.
2. Kijima S.: *Vitamin E*. Japan Scientific Societies Press, Tokyo 1993.
3. Cavins J. F., Inglett G. E.: *Cereal Chem.* 51, 605 (1974).
4. Taylor P., Barnes P.: *Chem. Ind.* 20, 722 (1981).
5. Thompson J. N., Hatina G.: *J. Liquid Chromatogr.* 2, 237 (1979).
6. McMurray C. H., Blanchflower W. J.: *J. Chromatogr.* 176, 488 (1979).
7. Cohen H., Lapointe M. R.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 63, 1254 (1980).
8. Analytical Methods Committee of the Royal Society of Chemistry: *Analyst* 116, 421 (1991).
9. VDLUFA (Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs und Forschungsanstalten), *Methodenbuch Band III*, kapi-tola 13.5.4., 2. doplněk. Darmstadt Books, Darmstadt 1988.
10. ČSN 12822: *Potraviny – Stanovení vitaminu E metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie – Stanovení α -, β -, γ - a δ -tokoferolů*. ČNI, Praha 2002.
11. Vyhláška č. 124/2001 Sb. Ministerstva zemědělství, kterou se stanoví metody odběru vzorků, metody laboratorního zkoušení krmiv, doplňkových látek a premixů a způsob uchovávání vzorků podléhajících zkáze, ve znění vyhlášky č. 497/2004 Sb.
12. Zákon č. 91/1996 Sb., o krmivech ve znění pozdějších předpisů.
13. Zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích ve znění pozdějších předpisů.

R. Hosmanová^a and M. Douša^b (^aCentral Institute for Supervising and Testing in Agriculture Brno, National Reference Laboratory, Plzeň, ^bZentiva, Co., Prague): **HPLC Determination of Vitamin E in Feed Materials, Compounded Feeds and Foods**

Vitamin E is a collective term for fat-soluble chroman-6-ol derivatives that exhibit biological activity of α -tocopherol. At present, eight such derivatives are included in the vitamin E family: α -, β -, γ - and δ -tocopherol and α -, β -, γ - and δ -tocotrienol. The vitamin E content in food and feeds is expressed as that of α -tocopherol. The aim of this paper was to monitor the content of tocopherols and tocotrienols in food and feed materials and their mixtures. The contents were recalculated as α -tocopherol equivalents (α -TE). The α -tocopherol contents and α -TEs were compared. The content of the other tocopherols and tocotrienols in food and compounded feeds does not significantly contribute to the α -TEs.

VÝBĚR A ZHODNOCENÍ VHODNÝCH METOD PRO STANOVENÍ ANTI-OXIDAČNÍ AKTIVITY FIALOVÝCH A ČERVENÝCH ODRŮD BRAMBOR

MILOSLAV ŠULC^a, JAROMÍR LACHMAN^a,
KAREL HAMOUZ^b, MATYÁŠ ORSÁK^a, PETR
DVOŘÁK^b a VENDULKA HORÁČKOVÁ^c

^a Katedra chemie, ^b Katedra rostlinné výroby, Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6,

^c Výzkumný ústav bramborářský, Dobrovského 2366, 580 01 Havlíčkův Brod
lachman@af.czu.cz

Došlo 22.3.07, přijato 11.6.07.

Klíčová slova: brambory, fialové, červené, žlutomasé odrůdy, antioxidační aktivita, ABTS, FRAP, DPPH

Úvod

Bramborové hlízy s červeně nebo fialově zbarvenou dužninou vykazují významnou antioxidační aktivitu stejně jako jiné druhy zbarvené zeleniny (červené zelí, červeně zbarvené odrůdy cibule aj.)¹. Jsou to především anthokyany a karotenoidy, které zejména přispívají k antioxidační aktivitě barevných odrůd brambor². Bylo zjištěno, že u odrůd s červeně nebo fialově zbarvenou dužninou hlíz přispívá askorbová kyselina pouze ze 13 % k hydrofilní antioxidační aktivitě, zatímco převážná část připadá na acylované anthokyanové glykosidy^{3–5}.

Barevné odrůdy brambor jsou velkou novinkou pro spotřebitele nejen v ČR, ale i v zahraničí. Zákazníkům jsou ještě prakticky neznámé. Cílem této práce bylo zjistit antioxidační aktivitu zbarvených odrůd brambor vypěstovaných v České republice pro šlechtitelské účely a porovnat je se vzorkem standardně používaných konzumních (žlutomasých) odrůd brambor. Pro dosažení relevantních údajů byly vybrány tři nejběžnější metody pro měření antioxidační aktivity, které jsme se snažili na reálném vzorku též mezi sebou porovnat. Ke srovnání byly vybrány metody ABTS, FRAP a DPPH.

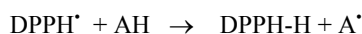
Antioxidační aktivita je definována jako schopnost sloučeniny (směsi látek) inhibovat oxidační degradaci různých sloučenin (např. zabraňovat peroxidaci lipidů). Měly by se rozlišovat dva pojmy – antioxidační kapacita a reaktivita. Antioxidační kapacita poskytuje informaci o délce trvání antioxidačního účinku, reaktivita charakterizuje počáteční dynamiku průběhu antioxidačního procesu při určité koncentraci antioxidantu. V oblasti chemické analýzy a biologického hodnocení jakosti rostlinných

produktů byly v posledních letech vypracovány četné metody⁶, které umožňují stanovit tzv. celkovou antioxidační aktivitu vzorku (TAC tj. total antioxidant capacity). Jsou principiálně značně navzájem odlišné a postupně se vyvíjejí jejich různé modifikace.

Principem ABTS testu⁷ je sledování inaktivace radikálového kationu ABTS^{•+} vznikajícího oxidací 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonátu), kde aktivačním činidlem je AAHP, tj. 2,2'-azobis(2-amidinopropan)dihydrochlorid, H₂O₂ v přítomnosti peroxidasy, hexakynoželeznatanu tetradraselného K₄[Fe(CN)₆] či peroxidisíranu draselného K₂S₂O₈. ABTS^{•+} má silnou absorpční ve viditelné oblasti 600–750 nm (roztok je zelený) a antioxidační aktivita může být snadno stanovena spektrofotometricky. TEAC vyjadřuje počet radikálových kationtů ABTS^{•+} inaktivovaných jednou molekulou antioxidantu. Stanovení TEAC je závislé na čase inkubace jakož i na poměru množství vzorku a koncentrace ABTS^{•+}. Jedním z omezení této metody je její malá selektivita při reakci s donory vodíkových atomů. ABTS test je vhodný pro měření hydrofilních i lipofilních antioxidantů. Radikálový kationt ABTS^{•+} může být v DMPD testu nahrazen levnějším stabilním radikálovým kationtem DMPD^{•+} (*N,N*-dimethyl-*p*-fenyldiamindihydrochlorid), který však vyžaduje pro svoji stabilitu nízké pracovní teploty⁸.

Metoda FRAP – (Ferric reducing antioxidant power) je založena na redukci železitých komplexů⁹, např. TPTZ (2,4,6-tripyridyl-*s*-triazinu) s hexakynoželezitanem draselným K₃[Fe(CN)₆] nebo chloridem železitým FeCl₃, které jsou téměř bezbarvé (popř. slabě nahnědlé) a po redukci se tvoří modře zbarvený železnatý komplex (λ=593 nm).

DPPH test je založen na schopnosti stabilního volného radikálu 1,1'-difeny-2-pikrylhydrazylu reagovat s donory vodíku¹⁰. DPPH vykazuje silnou absorpci v UV-VIS spektru. DPPH test je při reakci s donory H selektivnější než ABTS^{•+}. Při tomto testu se po redukci antioxidantem (AH) nebo radikálem (R[•]) roztok odbarví:



Experimentální část

Chemikálie

ABTS (CAS: 30931-67-0), DPPH (CAS: 1898-66-4), TPTZ (CAS: 3682-35-7) Sigma, askorbová kyselina, chlorid železitý, oxid manganičitý (Lachner), methanol GR (Penta).

Rostlinný materiál

Vzorky pocházely z hlíz *Solanum tuberosum* (L.), které byly vypěstovány v ČR (sadbové brambory) v roce 2006 na stanovištích Suchdol, Přerov n/Labem, Valečov, Lípa a Havlíčkův Brod (Banka genetických zdrojů bram-

boru, VÚB Havlíčkův Brod, s.r.o.) a vzorek odrůdy Blaue St. Galler pocházel ze Švýcarska. Pro měření byly použity pouze mechanicky a fyziologicky nepoškozené brambory o hmotnosti 20–80 g (barevně zbarvené odrůdy mívají menší hlízy než standardní žlutomasé konzumní odrůdy). Na poli byl odebrán polní vzorek (procházel hlavním náhodným vzorkováním) o velikosti asi 20 kg, ze kterého byl v laboratoři pořízen laboratorní průměrný vzorek, který byl použit k analýzám. Laboratorní vzorek se sestával ze čtvrtek náhodně vybraných hlíz o hmotnosti asi 1 kg. Všechny operace při přípravě laboratorního vzorku byly prováděny rychle a takovým způsobem, aby bylo zamezeno degradaci vzorku s velmi rychlým zmražením.

Studie je zaměřena na barevné odrůdy brambor (27 vzorků) a pro srovnání byly vybrány čtyři vzorky typických konzumních žlutomasých odrůd.

Příprava vzorků

Polní vzorky brambor byly uchovány v boxu při teplotě +6 °C ve tmě a následně během jednoho měsíce zpracovány. Všechny vzorky byly analyzovány paralelně jak lyofilizované, tak i v čerstvém stavu. Hlízy brambor byly zmrazeny a lyofilizovány na lyofilizátoru Lyovac GT 2 (Leybold-Heraeus, Německo). Vzorky (1 g lyofilizátu) byly pro analýzu 15–25× extrahovány methanolem (4 ml, s 0,01 % HCl) v centrifugační kyvetě s usnadněním extrakce v ultrazvukové lázni (5 min), následně centrifugovány (5 min) a supernatanty byly spojeny. Po ukončení extrakce byl supernatant odpařen do sucha ve vakuu (45 °C) a před stanovením antioxidantní aktivity rozpuštěn v 50% methanolu na ultrazvukové vodní lázni a centrifugován (5 min, 14 000 ot.). Efektivita a ukončení extrakce byla kontrolována reakcí fenolových látek s Folin-Ciocalteuovým činidlem¹.

Čerstvé vzorky (asi 150 g) byly rozmixovány a šťáva vytlačena na lisu a následně centrifugována (18 000 ot., 4 °C, 15 min v kyvetách s N₂ atmosférou) a takto připravený vzorek byl neprodleně použit k analýze. Od přípravy vzorku do analýzy nesmělo uplynout více jak 30 minut.

Analytické metody

Spektrofotometrické stanovení antioxidantní aktivity

Po přípravě roztoků jednotlivých radikálů (viz níže) byla antioxidantní aktivita stanovena dle následujícího jednotného postupu: Ve 2 ml roztoku radikálu v kyvetě (10 mm) byla změřena absorbance v čase t_0 . Poté bylo přidáno 5 μ l vzorku, roztok byl promíchán a ponechán reagovat 20 min a následně byla změřena absorbance v čase t_20 na spektrofotometru He λ ios Gamma (Unicam, GB). Antioxidantní aktivita byla vypočtena jako úbytek/přírůstek absorbance obecně podle vzorce (zde pro úbytek absorbance): antioxidantní aktivita (%) = $100 - [(A_{t20}/A_{t0}) \times 100]$ a takto vyjádřená antioxidantní aktivita byla převedena podle kalibrační křivky standardu (askorbová kyselina, $R^2 > 0,9945$) zhotovené pro danou absorbanci v t_0 , aby bylo možné jednotlivé metody a výsledky porovnat, pokud nevycházely

stále ze stejných počátečních podmínek. Každý vzorek byl měřen v pěti paralelních stanoveních.

Stanovení antioxidantní aktivity DPPH testem

Pro měření byla použita metodika Pareja a spol.¹¹. Byl připraven metanolický roztok DPPH o absorbanci (t_0) $0,200 \pm 0,01$. Absorbance byla měřena při vlnové délce $\lambda = 515$ nm.

Stanovení antioxidantní aktivity ABTS testem

54,9 mg ABTS bylo rozpuštěno ve 20 ml fosfátového pufru (pH 7,0; 5 mM) a aktivováno na kationt radikálu ABTS⁺ přidáním 1 g MnO₂ za občasného míchání a doby aktivace 30 min (cit.¹²). Následně byl roztok centrifugován (5 min, 7000 ot.), zfiltrován přes stříkačkový filtr (PTFE 0,25 μ m, \varnothing 13 mm, Teknokroma) a naředěn fosfátovým pufrům na absorbanci (t_0) $0,500 \pm 0,01$. Absorbance roztoku byla měřena při vlnové délce $\lambda = 734$ nm.

Stanovení antioxidantní aktivity FRAP testem

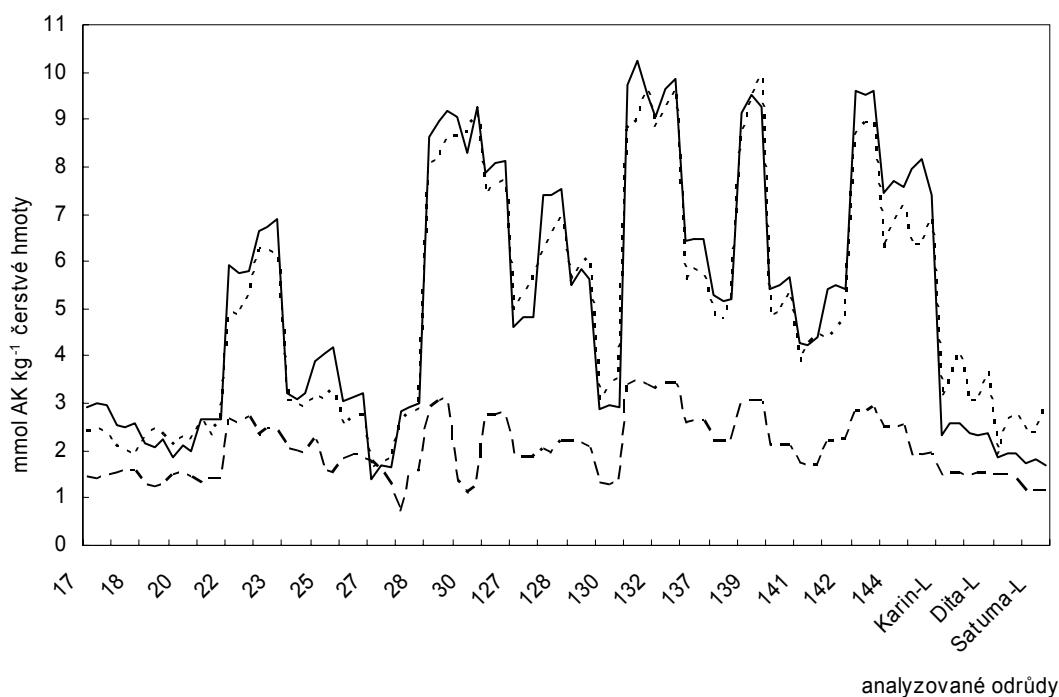
Pracovní roztok FRAP (cit.¹³) byl připraven smícháním 10 objemových dílů acetatového pufru (300 mM, pH 3,6) s 1 dílem roztoku TPTZ (10 mM, rozpuštěného ve 40 mM HCl) a s 1 dílem roztoku FeCl₃ (20 mM). Absorbance byla měřena při vlnové délce $\lambda = 593$ nm.

Statistická analýza

Všechny naměřené antioxidantní aktivity byly přepočteny a vyjádřeny v mmol askorbové kyseliny na 1 kg čerstvé hmoty brambor. Statistická analýza byla provedena za použití softwaru Statistica 7.0 (StatSoft, USA) pomocí parametrických a neparametrických testů na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Výsledky a diskuse

Vzhledem ke složení komplexu antioxidantů v daném biologickém materiálu je nutné vždy vybrat soubor vhodných metod. V olivovém oleji byly např. pro sledování antioxidantní aktivity použity metody ABAP, DPPH a stanovení antioxidantní aktivity modelovým systémem s linoleátem β -karotenu a ABTS (cit.¹⁴) a z těchto metod bylo jako nejvhodnější vybráno stanovení s linoleátem β -karotenu. U brambor byly v literatuře popsány pouze výsledky stanovení antioxidantní aktivity lyofilizovaných vodných extraktů bramborových slupek metodou DPPH, kde byla zjištěna jejich značná antioxidantní aktivita¹⁵. Antioxidantní komplex brambor je tvořen především hydrofilními antioxidanty¹⁶ (polyfenoly, anthokyany, askorbová kyselina), a proto na základě kritérií, jako je ekonomika stanovení, dostupnost reakčních činidel a laboratorní vybavení, byly pro stanovení antioxidantní aktivity v analyzovaném souboru brambor vybrány metody ABTS, DPPH a FRAP. Tyto metody byly také použity ke stanovení antioxidantní aktivity v ovoci¹⁷, jehož antioxidantní komplex se vyznačuje nízkými hodnotami pH a nízkou lipofili-



Obr. 1. Průměrné hodnoty antioxidační aktivity lyofilizátů analyzovaných vzorků brambor stanovené třemi různými metodami; na ose x jsou čísla označené analyzované vzorky barevných odrůd brambor (viz. tab. I), --- DPPH, — ABTS, FRAP

tu. Při grafickém srovnání hodnot antioxidační aktivity (obr. 1) získaném každou metodou je patrné, že ABTS a FRAP testy poskytují výrazně odlišné výsledky v porovnání s DPPH testem, který poskytuje nižší odezvu, a to jak v čerstvé šťávě z brambor, tak i po extrakci fenolových antioxidantů z lyofilizovaného materiálu (tab. I–III). Z grafu je též patrné, že výsledky poskytnuté jednotlivými testovanými metodami mají stejný trend u celého souboru analyzovaných dat. Shodnost výsledků poskytnutých jednotlivými metodami byla testována lineární regresí, kde v lyofilizovaných vzorcích byla zjištěna shoda naměřených hodnot mezi ABTS a FRAP testem $R^2=0,94$ (obr. 2). Srovnání metod u lyofilizovaných vzorků přineslo shodnost naměřených údajů jen kolem $R^2=0,61$, což naznačuje, že každá metoda bude vykazovat jinou citlivost nebo jejich vztah bude ovlivněn další (prozatím neznámou) veličinou (např. typem radikálu, reakčními podmínkami). Srovnání výsledků testovaných metod při zkoumání antioxidační aktivity šťávy brambor je méně uspokojivé. Nejlepší shodnost výsledků poskytly testy ABTS a DPPH ($R^2=0,80$), ostatní porovnání již měla $R^2 \leq 0,42$. Antioxidační aktivita u lyofilizátu měřená DPPH testem vykazovala rozmezí od 0,67 do 3,46 ($\bar{x}=1,91$) mmol AK v kg čerstvé hmoty v porovnání s čerstvou šťávou (0,34 až 7,69; $\bar{x}=1,30$), což je průměrný rozdíl asi 31 %. U lyofilizovaných vzorků nebyl prokázán žádný statisticky významný rozdíl mezi odrůdami, u vzorků šťávy brambor byly jako nejvíce se

odlišující odrůdy vyhodnoceny Vittelotte, Violette a Shetland Black. Rozdíl mezi žlutomásými a zbarvenými odrůdami činil v průměru asi 27 % ve prospěch zbarvených odrůd.

Antioxidační aktivita měřená pomocí ABTS testu vykazovala v průměru o 13 % nižší obsah v čerstvé šťávě ($\bar{x}=4,30$ mmol AK kg^{-1} čerstvé hmoty) ve srovnání s lyofilizátem ($\bar{x}=5,00$ mmol AK kg^{-1} čerstvé hmoty). Toto konstatování není ale jednoznačné, jak vyplývá z obr. 3. Je vidět, že asi třetina vzorků má vyšší antioxidační aktivitu v lyofilizátu, což je zřejmě dáno zastoupením jednotlivých antioxidantů v odrůdách, kde způsob přípravy vzorku k analýze je může degradovat. Žlutomásé odrůdy vykazaly v průměru jen asi 40% antioxidační aktivitu v porovnání s barevnými odrůdami, pokud byla antioxidační aktivita měřena v lyofilizátu (u šťávy z čerstvých brambor to bylo více, 73 %). U lyofilizovaných vzorků nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi odrůdami, u šťávy brambor bylo dosaženo stejných rozdílů mezi odrůdami jako u DPPH testu.

FRAP test poskytl nejmarkantnější rozdíly mezi žlutomásými ($\bar{x}=3,00$ mmol AK kg^{-1} čerstvé hmoty) a barevnými odrůdami ($\bar{x}=4,95$ mmol AK kg^{-1} čerstvé hmoty) u lyofilizovaných vzorků. FRAP test mimo jiné prokázal nejmenší rozdíl v hodnotách antioxidační aktivity v závislosti na testované matici vzorku (v průměru pouze 9 %). Odrůdy, které se nejvíce odlišovaly od ostatních,

Tabulka I

Průměrné hodnoty antioxidační aktivity v lyofilizátech a šťávě z čerstvých analyzovaných odrůd brambor [mmol askorbové kyseliny kg⁻¹ čerstvé hmoty]

Oblast pěstování	Odrůda	Číslo vzorku	DPPH ^{a,b}	ABTS ^{a,b}	FRAP ^{a,b}
	<i>barevná</i>				
Lípa	Valfi	78	2,76 ± 0,03 1,43 ± 0,07	8,02 ± 0,12 4,58 ± 0,09	7,58 ± 0,12 5,83 ± 0,34
Přerov nad Labem	Blue Congo	17	1,44 ± 0,04 0,96 ± 0,04	2,97 ± 0,04 3,29 ± 0,05	2,43 ± 0,01 2,65 ± 0,08
	Highland Burgundy Red	18	1,74 ± 0,04 0,89 ± 0,04	2,54 ± 0,05 3,88 ± 0,13	2,01 ± 0,09 2,63 ± 0,13
	Salad Blue	19	1,25 ± 0,03 1,18 ± 0,03	2,17 ± 0,08 3,23 ± 0,04	2,36 ± 0,09 2,37 ± 0,08
	Shetland Black	20	1,47 ± 0,05 0,77 ± 0,03	1,99 ± 0,12 2,91 ± 0,04	2,21 ± 0,09 2,41 ± 0,15
	Valfi	21	1,37 ± 0,04 1,04 ± 0,04	2,67 ± 0,01 3,36 ± 0,05	2,57 ± 0,20 2,25 ± 0,07
	Vittelotte	22	2,65 ± 0,07 6,82 ± 0,59	5,82 ± 0,08 6,89 ± 0,19	5,02 ± 0,22 6,54 ± 0,38
	Violette	23	2,40 ± 0,07 2,34 ± 0,09	6,76 ± 0,13 8,77 ± 0,24	6,23 ± 0,04 6,26 ± 0,21
	Suchdol	Blue Congo	24	1,98 ± 0,04 1,42 ± 0,09	3,16 ± 0,06 5,08 ± 0,07
Highland Burgundy Red		25	1,77 ± 0,40 1,06 ± 0,04	4,06 ± 0,14 5,67 ± 0,37	3,18 ± 1,19 4,48 ± 0,15
Salad Blue		26	1,85 ± 0,05 1,10 ± 0,04	3,13 ± 0,07 4,43 ± 0,14	2,67 ± 0,10 3,39 ± 0,08
Shetland Black		27	1,56 ± 0,26 0,76 ± 0,04	1,59 ± 0,15 3,59 ± 0,05	1,73 ± 0,09 2,69 ± 0,08
Valfi		28	1,23 ± 0,49 1,13 ± 0,04	2,91 ± 0,09 4,30 ± 0,06	2,76 ± 0,12 3,15 ± 0,12
Vittelote		29	3,00 ± 0,11 2,00 ± 0,05	8,92 ± 0,28 7,01 ± 0,24	8,30 ± 0,29 4,55 ± 0,08
Violette		30	1,24 ± 0,13 2,23 ± 0,12	8,88 ± 0,51 7,95 ± 0,19	8,84 ± 0,27 5,38 ± 0,14
Švýcarsko		Blaue St. Galler	137	2,60 ± 0,01 1,61 ± 0,07	6,45 ± 0,02 5,07 ± 0,08
	Havlíčkův Brod	Blaue Hindel Bank	138	2,20 ± 0,01 1,22 ± 0,06	5,20 ± 0,06 4,02 ± 0,08
Blaue Ludiano		139	3,03 ± 0,04 1,77 ± 0,10	9,31 ± 0,21 6,75 ± 0,49	9,34 ± 0,65 9,02 ± 0,27
Blaue Mauritius		140	2,12 ± 0,01 0,98 ± 0,03	5,53 ± 0,12 3,75 ± 0,12	5,06 ± 0,28 5,64 ± 0,24
Blaue Schweden		141	1,71 ± 0,01 1,20 ± 0,05	4,30 ± 0,10 4,16 ± 0,17	4,18 ± 0,02 6,98 ± 0,25
British Columbia Blue		142	2,21 ± 0,02 1,05 ± 0,05	5,45 ± 0,06 2,48 ± 0,08	4,58 ± 0,20 6,49 ± 0,46
Farbe Kartoffel		143	2,84 ± 0,07 1,52 ± 0,06	9,57 ± 0,05 6,98 ± 0,08	8,86 ± 0,16 9,47 ± 0,95
Hafija		144	2,51 ± 0,03 1,66 ± 0,06	7,57 ± 0,12 6,83 ± 0,13	6,76 ± 0,46 10,89 ± 0,77
Salad Red		145	1,91 ± 0,03 1,50 ± 0,06	8,04 ± 0,10 6,88 ± 0,06	6,53 ± 0,34 7,12 ± 0,67

Tabulka I
pokračování

Oblast pěstování	Odrůda	Číslo vzorku	DPPH ^{a,b}	ABTS ^{a,b}	FRAP ^{a,b}
	<i>barevná</i>				
Valečov	Blue Congo	127	1,88 ± 0,05 1,57 ± 0,07	4,75 ± 0,13 4,05 ± 0,17	5,31 ± 0,34 6,37 ± 0,23
Valečov	Highland Burgundy Red	128	2,06 ± 0,12 1,58 ± 0,12	7,44 ± 0,09 5,98 ± 0,11	6,57 ± 0,37 7,68 ± 0,34
Valečov	Salad Blue	129	2,14 ± 0,07 1,04 ± 0,04	5,65 ± 0,18 3,61 ± 0,04	5,86 ± 0,28 4,81 ± 0,19
Valečov	Shetland Black	130	1,33 ± 0,05 0,39 ± 0,00	2,91 ± 0,04 2,63 ± 0,03	3,34 ± 0,27 6,18 ± 0,51
Valečov	Violette	131	3,41 ± 0,05 2,65 ± 0,05	9,84 ± 0,38 8,33 ± 0,17	9,14 ± 0,43 11,05 ± 0,70
Valečov	Vittelotte	132	3,40 ± 0,07 2,38 ± 0,14	9,52 ± 0,42 7,49 ± 0,43	9,23 ± 0,41 10,00 ± 0,81
	<i>žlutomasá</i>				
Lípa	Karin		1,51 ± 0,05 1,79 ± 0,04	2,50 ± 0,16 2,95 ± 0,27	3,58 ± 0,48 5,32 ± 0,06
	Ditta		1,49 ± 0,05 1,83 ± 0,08	2,36 ± 0,03 3,35 ± 0,01	3,26 ± 0,36 4,75 ± 0,10
	Impala		1,45 ± 0,03 0,36 ± 0,02	1,91 ± 0,06 2,75 ± 0,01	2,45 ± 0,48 2,41 ± 0,05
	Saturna		1,14 ± 0,02 1,08 ± 0,07	1,75 ± 0,05 4,15 ± 0,03	2,58 ± 0,34 4,20 ± 0,18

^a Antioxidační aktivita v lyofilizátu brambor je uvedena v prvním řádku u každé odrůdy; ^b antioxidační aktivita v čerstvých bramborách je uvedena ve druhém řádku u každé odrůdy

Tabulka II

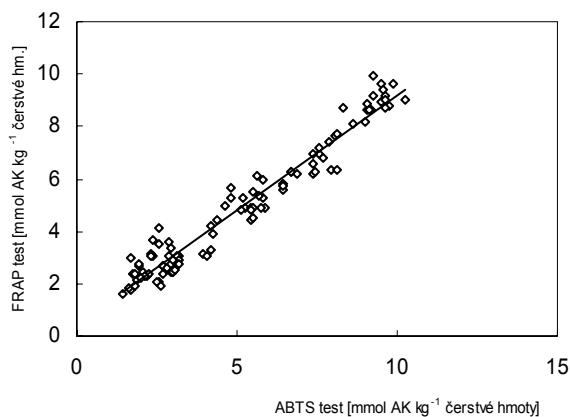
Statistické hodnoty antioxidační aktivity [mmol askorbové kyseliny kg⁻¹] v lyofilizátu barevných a žlutomasých odrůd a jednotlivých lokalit

	DPPH			ABTS			FRAP		
	medián	min.	max.	medián	min.	max.	medián	min.	max.
Všechny vzorky	1,91	0,67	3,46	5,00	1,41	10,25	4,80	1,63	9,94
Barevné ^a	2,03	0,67	3,46	5,46	1,41	10,25	4,95	1,63	9,94
Žlutomasé	1,46	1,12	1,54	2,14	1,71	2,59	3,00	1,90	4,09
Přerov	1,49	1,23	2,69	2,66	1,68	6,90	2,42	1,92	6,27
Suchdol	1,78	0,67	3,07	3,20	1,41	9,26	3,02	1,63	9,15
Lípa	2,76	2,73	2,78	8,07	7,89	8,12	7,62	7,45	7,68
Valečov	2,11	1,28	3,46	6,61	2,88	10,25	6,14	3,08	9,65
Havlíčkův Brod	2,35	1,70	3,06	6,80	4,22	9,60	6,22	3,88	9,94

^a Barevné – odrůdy s červeně nebo fialově zbarvenou dužninou

jsou: Salad Blue, Shetland Black, Valfi, Violette a Vitelotte. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi odrůdami, pokud byl matricí lyofilizát.

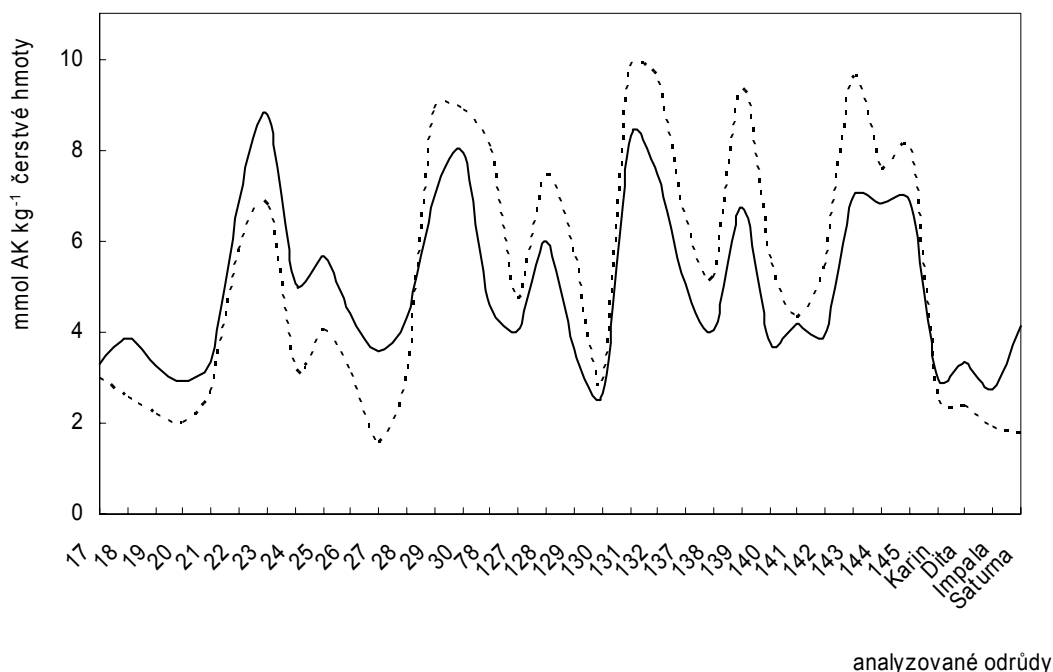
Ze získaných výsledků vyplývá, že pro sledování antioxidační aktivity má velký význam vliv matrice. Úprava vzorku lyofilizací ukázala, že je možno obdržet výsledky s vyšší reprodukovatelností, neboť dochází k inhibici polyfenoloxidás, které způsobují enzymatické hnědnutí¹⁸.



Obr. 2. Korelace mezi metodami ABTS a FRAP v lyofilizátu brambor ($R^2=0,9389$)

Nutno ale upozornit na skutečnost, že lyofilizací může docházet k inaktivaci nebo degradaci látek s antioxidačními účinky (např. askorbové kyseliny nebo antioxidačních enzymů). Manipulace s čerstvě vymačkanou šťávou z brambor se ukázala jako velmi problematická a navíc při zkoušce na stabilitu šťávy se prokázalo, že tento materiál je velmi nestabilní. Byly zaznamenány velké výkyvy (až 60 %) v antioxidační aktivitě v závislosti na čase od vymačkání šťávy, což velmi snižuje reprodukovatelnost výsledků a ukazuje, že šťáva z brambor je nestabilní matricí nevhodnou pro stanovení antioxidační aktivity. V lyofilizátu jsme zaznamenali kolísání hodnot v rozmezí 4–7 %.

Jedním z hlavních cílů této práce bylo zjistit rozdíly mezi žlutomasými a zbarvenými odrůdami, proto jsme testovali hypotézu, zda barevné odrůdy brambor budou mít vyšší antioxidační aktivitu a zda získané výsledky jsou ovlivněny matricí, ve které se antioxidační aktivita sleduje. Výsledky tohoto testování nejsou jednoznačné a závisejí na tom, v jaké matrici je antioxidační aktivita sledována. U lyofilizovaných brambor se podařilo za použití Mannova-Whitneyova U-testu prokázat, že antioxidační aktivita měřená DPPH a ABTS se statisticky významně liší mezi barevnými a žlutomasými odrůdami ($P=0,0309$ resp. $0,002$). V případě, že je antioxidační aktivita měřena v čerstvě šťávě, bylo možno prokázat rozdíl mezi barevnými a žlutomasými odrůdami pouze při použití ABTS testu ($P=0,026$). Intenzivněji zbarvené odrůdy (zejména temně



Obr. 3. Ukázka vztahu mezi hodnotami antioxidační aktivity měřených ABTS testem mezi lyofilizátem a čerstvou šťávou ($R^2=0,691$); na ose x jsou čísla označené analyzované vzorky barevných odrůd brambor (viz. tab. I), — šťáva, ···· lyofilizát

Tabulka III

Statistické hodnoty antioxidační aktivity [mmol askorbové kyseliny kg⁻¹ čerstvé hmoty] ve šťávě čerstvých hlíz barevných a žlutomasých odrůd z jednotlivých lokalit

	DPPH			ABTS			FRAP		
	medián	min.	max.	medián	min.	max.	medián	min.	max.
Všechny vzorky	1,18	0,31	6,99	3,91	2,35	8,16	4,85	1,98	10,10
Barevné ^a	1,18	0,35	6,99	4,12	2,35	8,16	4,94	1,98	10,10
Žlutomasé	1,32	0,31	1,71	2,99	2,48	3,80	4,10	2,14	4,91
Přerov	0,93	0,66	6,99	3,06	2,61	8,16	2,36	1,98	6,40
Suchdol	1,02	0,65	2,21	4,63	3,20	7,40	3,58	2,36	5,06
Lípa	1,25	1,25	1,40	4,20	4,03	4,22	5,33	4,84	5,70
Valečov	1,42	0,35	2,45	4,58	2,35	7,81	6,50	4,07	10,10
Havlíčkův Brod	1,32	0,85	1,75	4,57	3,28	6,45	6,35	3,62	10,65

^a Barevné – odrůdy s červeně nebo fialově zbarvenou dužninou

fialově) vykazují vyšší antioxidační aktivitu v porovnání se žlutomasými i červenými odrůdami (kde je barvivo lokalizováno mnohdy pouze ve slupce či v úzké vrstvě pod slupkou). Potvrzuje se tak skutečnost, že především intenzivně červeně nebo fialově zbarvené brambory vykazují vysokou antioxidační aktivitu díky přítomným anthokyanům a kromě přímé konzumace mohou být pro jejich vysoký antioxidační potenciál využity i ve formě vloček¹⁹.

Většina autorů stanovuje antioxidační aktivitu v biologickém materiálu pouze jednou metodou – např. metodou DPPH (cit.¹) nebo CUPRAC (cit.¹⁰). Pozornost je věnována kinetice a různým výsledkům získaným na základě chemicky odlišných principů stanovení⁹. Každá z těchto metod má své výhody, ale má také svá omezení, např. náklady na provedení analýzy, dostupnost reakčních činidel apod.²⁰ Vzhledem k zajištění objektivnosti získaných výsledků se proto v poslední době autoři snaží aplikovat několik metod současně pro sledování antioxidační aktivity v biologických materiálech a také se snaží o srovnání použitých metodik²¹. Naše výsledky (obr. 1) získané z pěti paralelních stanovení potvrzují dostačující reprodukovatelnost všech tří použitých metod (ABTS, DPPH, FRAP) a jsou shodné se závěry Thaiponga a spol.²², kteří našli rozdíly pouze mezi metodami ABTS a ORAC, zatímco metody ABTS, DPPH a FRAP poskytly srovnatelné výsledky. Průměrné hodnoty ABTS byly 2–3× vyšší ve srovnání s hodnotami získanými metodami DPPH a FRAP.

Závěr

Ze získaných výsledků je možné konstatovat, že červeně a fialově zbarvené odrůdy brambor vykazují vyšší antioxidační aktivitu ve srovnání s bramborami žlutomasými. Toto tvrzení je ovšem ovlivněno výběrem matrice, ve

kteří byla antioxidační aktivita stanovena. Šťáva se ukázala být nevhodnou matricí. Nejlepší lineární korelace byla nalezena mezi metodami ABTS a FRAP ($R^2=0,94$) při stanovení antioxidační aktivity v lyofilizátu brambor. Lineární korelace mezi DPPH a ABTS ($R^2=0,66$) a DPPH a FRAP ($R^2=0,62$) byly podstatně nižší. Tyto výsledky potvrzují shodnost metod ABTS a FRAP a naopak jejich rozdílnost oproti DPPH metodě, která může být považována spíše za orientační test. V dalších pracích by měla být pozornost věnována především dalším alternativám zpracování matrice.

Práce je řešena v rámci Výzkumného záměru MŠMT 6046070901 a grantových projektů MZe ČR NAZV IG46058 a MZe CR E-97/01-3160-0200MZe.

Seznam použitých zkratk

AAHP	2,2'-azobis(2-amidinopropan)dihydrochlorid
ABTS	2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin)-6-sulfonát
AK	askorbová kyselina
CUPRAC	cupric reducing antioxidant capacity
DMPD	<i>N,N</i> -dimethyl- <i>p</i> -fenyldiamindihydrochlorid
FRAP	ferric reducing antioxidant power
ORAC	oxygen radical antioxidant capacity
DPPH	1,1'-difenyl-2-pikrylhydrazyl
TAC	total antioxidant capacity
TEAC	trolox equivalent antioxidant capacity
TPTZ	2,4,6-tripyridyl- <i>s</i> -triazin
TRAP	total reactive antioxidant potential

LITERATURA

- Lachman J., Hamouz K., Čepl J., Pivec V., Šulc M., Dvořák P.: Chem. Listy 100, 522 (2006).
- Čopíková J., Uher M., Lapčík O., Moravcová J., Dra-

- šar P.: Chem. Listy 99, 802 (2005).
3. Stratil P., Klejduš B., Kubáň V.: J. Agric. Food Chem. 54, 607 (2006).
 4. Brown C. R.: Am. J. Pot. Res. 82, 163 (2005).
 5. Brown C. R., Culley D., Yang C. P., Durst R., Wrolstad R.: J. Am. Soc. Hortic. Sci. 130, 174 (2005).
 6. Roginsky V., Lissi E. A.: Food Chem. 92, 235 (2005).
 7. Lachman J., Šulc M.: Bornim. Agrartech. Ber. 55, 161 (2006).
 8. Fogliano V., Verde V., Randazzo G., Ritieni A.: J. Agric. Food Chem. 47, 1035 (1999).
 9. Ou B., Huang D., Hampsch-Woodill M., Flanagan J. A., Deemer E. K.: J. Agric. Food Chem. 50, 3122 (2002).
 10. Molyneux P.: Songkl. J. Sci. Technol. 26, 211 (2004).
 11. Parejo L., Codina C., Petrakis C., Kefalas P.: J. Pharm. Toxicol. Methods 44, 507 (2000).
 12. Pennycooke J.C., Cox S., Stushnoff C.: Environ. Experiment. Bot. 53, 225 (2005).
 13. Politeo O., Jukic M., Milos M.: Food Chem. 101, 379 (2007).
 14. Gorinstein S., Martin-Belloso O., Katrich E., Lojek A., Číž M., Gligelmo-Miguel N., Haruenkit R., Park Y. S., Jung S. T., Trakhtenberg S.: J. Nutr. Biochem. 14, 154 (2003).
 15. Singh N., Rajini P. S.: Food Chem. 85, 611 (2004).
 16. Reyes L. F., Miller J. C., Cisneros-Zevallos L.: Am. J. Pot. Res. 81, 187 (2004).
 17. Ozgen M., Reese R. N., Tulio A. Z., Scheerens J. C., Miller A. R.: J. Agric. Food Chem. 54, 1151 (2006).
 18. Urrutia-Beret G., Balogh T., Schneider J., Knorr D.: J. Food Eng. 78, 375 (2007).
 19. Han K. H., Sekikawa M., Shimada M., Hashimoto M., Hashimoto N., Noda T., Tahala H., Fukushima M.: Brit. J. Nutr. 96, 1125 (2006).
 20. Mc Analle S., Koepke C. M., Le L., Vennum E., Mc Annaley B.: GlycoSci. Nutr. 4, 1 (2003).
 21. Fogliano V., Verde V., Randazzo G., Ritieni A.: J. Agric. Food Chem. 47, 1035 (1999).
 22. Thaipong K., Boonprakob U., Crosby K., Cisneros-Zevallos L., Byrne D. H.: J. Food Comp. Anal. 19, 669 (2006).

M. Šulc^a, J. Lachman^a, K. Hamouz^b, M. Orsák^a, P. Dvořák^b, and V. Horáčková^c (^a Department of Chemistry, ^b Department of Plant Production, Faculty of Agrobiology, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences in Prague, Czech Republic, ^c Potato Research Institute Havlíčkův Brod, Czech Republic): **Selection and Evaluation of Methods for Determination of Antioxidant Activity of Purple- and Red-Fleshed Potato Varieties**

Antioxidant activity of red-, purple- and yellow-fleshed potato varieties by the ABTS, DPPH and FRAP methods was investigated. Purple- and red-fleshed potatoes showed 1.5–2.6 times higher antioxidant activity compared with the yellow-fleshed ones. However, the choice of matrix in which antioxidant activity was determined affected the obtained results. Significant differences between varieties and the localities on which the potatoes were cultivated were determined. The highest linear correlation between ABTS and FRAP arrays was found ($R^2=0.94$); these arrays appear to be useful for the determination of antioxidant activity of potatoes. Statistically significant differences between the antioxidant activity of lyophilizate and juice of fresh potato tubers were found in some varieties.

OPRAVA

V článku Vítejte v nanosvětě (Chem. Listy 101, 262 (2007)), kapitola 9, první odstavec, byla nesprávně uvedena věta: „Například fullerén C₆₀ se skládá z 60 vzájemně propojených atomů uhlíku a z 60 atomů vodíku. Každý atom uhlíku je spojen se třemi jinými atomy uhlíku.“

Uvádím správné znění: „Fullerén C₆₀ se skládá výlučně z atomů uhlíku vzájemně propojených tak, že každý atom uhlíku je vázaný k jednomu sousednímu atomu uhlíku dvojnou vazbou a k dalším dvěma sousedním atomům jednoduchou vazbou.“

Petr Klusoň

DISKUSE

Komentář k článku „Korozní vlastnosti a složení pórové vody bentonitů“

Hynková E., Čechová Z., Sádovská G.: Chem. Listy 101, 415 (2007).

Uveřejněný článek se zabývá problematikou hlubinného ukládání radioaktivních odpadů (RAO), tj. tématem velmi důležitým, nezbytně doprovázejícím provoz jaderných zařízení. Dokud nebudou průmyslově schůdné jiné technologie přepracování RAO, na nichž se pracuje, je nutné se tímto problémem seriózně zabývat. Článek uveřejněný v Chemických listech však svým zpracováním naznačuje, že jsme v této zatím jediné technologii nepostoupili příliš daleko. Nebýt publikací, které jsou k dispozici, s nimiž je možné se seznámit a mj. i odkazu <http://ceg.fsv.cvut.cz/EN/index.htm> (skrýté uvedené pod názvem fyzikálního modelu MOCK-UP.CZ), byl bych velice skeptický, ani ne tak ke zmiňovanému termínu uvedení hlubinných uložišť v České republice do provozu, ale k tomu, zda kontejner bude schopen sloužit ještě po 100 000 letech.

Nemíním dělat oponenturu článku ani práci, na jejímž základě asi vznikl, ale závažnost tématu mi nedá nezmínit skutečnosti, které mi nejvíce vadily a padly do oka. Podle obsahu teoretické části se vnucuje dojem, že o problematice pórových roztoků, jejich vzniku ani faktorech, které mohou jejich agresivitu ovlivnit, nevíme vůbec nic; přitom problematika pórových roztoků, vznikajících v betonu, který je možné považovat rovněž za obtížně vyloužitelný kompozit, je detailně studována, v souvislosti se životností železo-betonových konstrukcí. Existují i poměrně spolehlivé metody laboratorní i průmyslově využitelné, jak detegovat nejen dobu jeho vzniku, ale i průběžně a dlouhodobě hodnotit jeho agresivitu vůči zvolenému konstrukčnímu materiálu. Rovněž faktory, které agresivitu těchto roztoků řídí, jsou známy. U hlubinných skladů bude asi nutné uvažovat i jiné teploty, jiné typy atmosféry i jiné parciální tlaky její složek, než laboratorní „vzduch“, teplotu a tlak – určitě je nutné očekávat vyšší podíly CO₂, který kromě agresivity ovlivní i loužitelnost bentonitů, není možné vyloučit přítomnost sloučenin síry apod.

Rovněž teoretická část „Korozní proces“ není úplná a vyčerpávající. Místo zcela obecného a ne zcela korektního konstatování, s problematikou skladování RAO, příliš nesouvisejícího, by měla být spíše věnována pozornost procesům, které budou řídit agresivitu pórových roztoků v podmínkách hlubinných uložišť, ve srovnání s normálními podmínkami, za nichž bylo zkoušeno. Uvedené vztahy, použité k vyhodnocení experimentů přesto, že jsou převzaty z normy, není možné akceptovat; většina z nich platí jen pro určitou jednotku použitých veličin – u žádného vztahu není uvedena jednotka, v níž by se mělo do vztahů dosazovat. Kromě toho z pěti „ukaza-

telů plošné rovnoměrné koroze“ by stačilo uvést pouze 2 při dobré vůli max. 3, ostatní použité již žádnou další informaci nepřinášejí.

Experimentální část navazuje na chudou část teoretickou, použitou metodikou zkoušek navíc za nevěrohodných podmínek. Za nedostatečný je nutné považovat popis zkoušených konstrukčních materiálů („a) ocel tř. 11 (standardní ocel??), b) ocel třídy 11?, značky 11 373, c) měď“); jedná se sice o zcela běžné materiály, ale není zřejmé, zda to bylo ověřeno nebo se to jen předpokládá (chybí kromě chemického složení a strukturních charakteristik i úprava povrchu a tloušťka vzorků aj.). Není zřejmé, jaká část korozního úbytku jde na vrub použitého postupu čištění vzorků po expozici; u materiálů korodujících nízkou korozní rychlostí musí být uveden výsledek slepého pokusu během odstraňování korozních produktů. Korozní zkoušky byly uskutečněny při teplotě 20 °C a tlaku 101,5 kPa, kromě toho, že v uložišti budou poměry jiné, jak se asi během zkoušky konstantní tlak udržoval?? Velmi důležitým je rovněž poměr plochy vzorku ku objemu výluhu, jemuž byl vzorek exponován, není rovněž zmíněno, jak bylo udržováno a kontrolováno množství rozpuštěných plynů (O₂, CO₂) během expozičních zkoušek. Navíc vliv koncentrace CO₂ na loužitelnost bentonitů (a hlavně na korozi) je založen jednak na nereálné koncentraci během aplikace a na nesprávné koncentraci během experimentů, jak je dohledatelné mj. v uvedené citaci (*cit.*³⁾), popř. jiné publikaci o hydrochemii. Ne zcela korektní je rovněž způsob vyjádření výsledků (počet platných číslic) analýz i korozních zkoušek, , atd., atp.

Konstatování uvedených závěrů: „*Bezpečné uložení radioaktivního odpadu předpokládá vyřešení řady nestandardních inženýrských i jiných problémů. Výrazně komplikovaným požadavkem na dlouhodobou spolehlivost je konstrukce hlubinného uložišť. Konstrukci je nutné založit na poznatcích získaných s využitím všech experimentálních nástrojů a procesů*“, kromě toho, že asi během práce nebyly získány, když jsou pochopeny, jsou v protikladu s použitým přístupem.

Poněkud konkrétnější část závěru uvádí ne zcela běžný termín „*smektit*“ poprvé, bez jakékoli dřívější zmínky v textu.

Využijeme-li přeci jen „tako“ získané výsledky, lze konstatovat, že pokud na rozhraní ocel–bentonit vznikne pórový roztok, bude ocelová stěna kontejneru porušena za 0,4 % předpokládané životnosti?? Přesto, že vím, jak „cenné“ a neobhájitelné toto číslo asi je, mám jej z pochopitelných důvodů obavu uvádět, avšak vědomě mlčet, znamená souhlasit a stát se spolu....?

Jaroslav Bystrianský
Ústav kovových materiálů a korozního inženýrství
VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6
bystriaj@vscht.cz

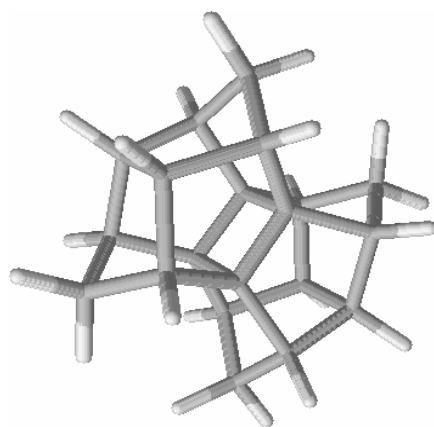


BULLETIN

ASOCIACE ČESKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ

Ročník 38

Číslo 3



Ústřední komise
ÚKCHO
chemické olympiády

Český komitét
ČKCH
pro chemii

ČSCHI

ČESKÁ SPOLEČNOST CHEMICKÉHO INŽENÝRSTVÍ
CZECH SOCIETY OF CHEMICAL ENGINEERING



Obsah Chemické listy 2007, číslo 5 a 6

ČÍSLO 5/2007

ÚVODNÍK 371

REFERÁTY

- Molekulární charakterizace mikrobiálních NAD(P) a Zn-dependentních alkoholdehydrogenas** 372
A. Kotrbova-Kozak, J. Sajdok a P. Kotrba
- Rstlinné lipoxygenázy – štruktúra a mechanizmus biokatalýzy** 384
M. Vanko, I. Holková, M. Obložinský, F. Bilka a L. Bezáková
- Rozmrazovací směsi a jejich vliv na okolí letišť** 391
I. Jiříček, J. Macák, V. Janda, M. Pazderová a P. Malý
- Mobilita, transformace a základní metody stanovení sloučenin arsenu v půdě a rostlinách** 397
J. Száková, M. Mihaljevič a P. Tlustoš

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

- Stanovení Cr(III) a Cr(VI) metodou iontové chromatografie** 406
P. Janoš, P. Kuráň a M. Řídká
- Vsolovací efekt, výpočet aktivitních koeficientov a stanovenie Gibbsových prenosových funkcií K^+ , Ba^{2+} $[Co(bipy)_3]^{2+}$ a $[Co(bipy)_3]^{3+}$ v zmesiach voda-acetonitril** 411
J. Benko, O. Vollarová, M. Aranyosiová a A. Bald
- Korozní vlastnosti a složení pórové vody bentonitů** 415
E. Hynková, Z. Čechová a G. Sádovská

NOMENKLATURA A TERMINOLOGIE 422

VII KONFERENCE SIGMA-ALDRICH 425

ČÍSLO 6/2007

ÚVODNÍK 467

REFERÁTY

- Biologické složky biosenzorů pro stanovení těžkých kovů** 468
P. Vopálenský, T. Ruml a P. Kotrba
- Aplikácia oxidu chloričitého ako dezinfekčného činidla na úpravu vody** 480
Ľ. Gajdoš, K. Munka, M. Karácsonyová a J. Derco
- Metabolity endofytických mikroorganizmov ako biologicky účinné látky** 486
M. Valachová, M. Múčková a M. Šturdíková

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

- Stanovení chemických forem rtuti kapalinovou chromatografií s detekcí atomovou fluorescenční spektrometrií technikou generace studených par** 495
P. Houserová, D. Matějčík, V. Kubáň, J. Pavlíčková a J. Komárek
- Stanovení aktivity enzymu superoxididmutasy pomocí soupravy Ransod v rostlinném materiálu** 504
N. Belcrediová, J. Ehrenbergerová, J. Prýma a P. Havlová
- Měření kritických micelárních koncentrací tenzidů ve vodných roztocích** 509
M. Müllerová, M. Šváb a M. Moreira dos Santos
- Vliv změn fyzikálních parametrů fluidních vrstev na charakteristiky tlakových fluktuací** 515
O. Trnka a M. Hartman
- Desorpční elektrosprej: moderní metoda analýzy organických povrchů** 524
V. Ranc, V. Havlicek, P. Bednar a K. Lemr

STO LET CHEMICAL ABSTRACTS – STO LET HISTORIE CHEMIE, 1907–2007

JAROSLAV ŠILHÁNEK

*Ústav organické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
silhanek@vscht.cz*

Klíčová slova: Chemical Abstracts, chemická informatika, chemické báze dat, historie chemie, chemická literatura

Obsah

1. Úvod
2. Jak to začalo aneb stručná historie „firmy“
3. Několik zastavení na stoleté cestě
4. Nástup počítačových technologií
5. Registrační systém CAS
6. Chemical Abstracts v našich zemích
7. SciFinder®
8. Jaké jsou současné možnosti práce s materiály Chemical Abstracts
9. A co dál?

1. Úvod

Kdo navštíví Ústřední knihovnu VŠCHT v Praze, najde v jedné, nepříliš velké místnosti kompletní soubor referátového časopisu Chemical Abstracts od 1. svazku z r. 1907. A všem návštěvníkům je zdůrazňováno, že zde jsou na regálech velmi stručnou formou sumarizovány prakticky všechny znalosti a poznatky ze všech chemických disciplín za celé 20. století. Návštěvník je pak buď zklamán, že toho zase až tak moc není nebo je šokován, jak to máme pěkně pohromadě a ještě přehledně seřazené. Žádná jiná vědecká disciplína nemá podobný nástroj, který jí umožňuje snadno a hlavně s vysokou spolehlivostí zjistit, co je známo a co ještě ne, a to hluboko do minulosti. A dnes můžeme ještě dodat, že v plně digitalizované verzi tohoto zdroje také neuvěřitelně rychle a spolehlivě. Jestliže tento nástroj už funguje plných sto let, určitě to stojí za připomenutí a alespoň stručnou rekapitulaci i vysvětlení, jak to funguje v současném světě digitálních informací.

2. Jak to začalo aneb stručná historie „firmy“

Sumarizovat výsledky vědeckého bádání formou krátkých abstraktů má podstatně delší tradici než 100 let. Dokonce předchůdce a určitě vzor pro Chemical Abstracts, německý referátový časopis *Chemisches Zentralblatt*, se může chlubit delší dobou své existence od r. 1830 až do r. 1969, tedy 139 let, nicméně zanikl a je dnes jen historickou reminiscencí. Bezprostředním předchůdcem Chemical Abstracts byl referátový časopis *Review of American Chemical Research*, který založil W. A. Noyes v r. 1895 a tentýž chemik poté, co se stal vedoucím pracovníkem National Bureau of Standards, zahájil na této instituci vydávání Chemical Abstracts v r. 1907. Samozřejmě ve velmi skromných poměrech v podobě 3 chemiků na poloviční úvazek. Po krátkém působení na University of Illinois se v r. 1909 tyto první abstraktoři přestěhovali na Department of Chemistry Ohio State University, v jejímž kampusu sídlila redakce Chemical Abstracts až do r. 1965. A i potom, když univerzitní kampus potřebám nestačil a bylo vybudováno nové sídlo, zůstává adresa CAS v blízkosti a je stále Columbus, Ohio. Dnes ovšem jako komplex budov s 1200 zaměstnanci, což už nepochybně velká „firma“ je, nebo i v pravém slova smyslu továrna na zpracovávání chemických informací.

Referátový časopis Chemical Abstracts byl jen dalším časopisem vydávaným Americkou chemickou společností a tato vědecká společnost je v podstatě vydavatelem do dneška. Ovšem narůstající objem činnosti záhy mnohonásobně přerostl problematiku vydávání ostatních časopisů, a tak v r. 1956 byla založena Chemical Abstracts Service (CAS)*, jako více méně samostatná součást Americké chemické společnosti (ACS). Tím se vydávání CA oddělilo od produkce ostatních časopisů ACS, stalo se finančně soběstačné, současně ale podle amerických, hlavně daňových zákonů s určitým neziskovým statutem, přesněji s omezenou výší zisku. Tato skutečnost se projevuje na ceně jak předplatného, tak i v dnešní době přístupu k elektronickým verzím. Doplňme tento ekonomický aspekt ještě nostalgickou vzpomínkou, že až do konce 1. světové války bylo předplatné pro členy ACS 6 dolarů, v roce 1956 pak 20 dolarů, ale pro univerzity se předplatné zvýšilo ze 60 dolarů v r. 1955 na 350 dolarů v r. 1956. To byly ovšem stále idyllické ceny ve srovnání s dnešním předplatným ve výši téměř 30.000 dolarů za rok.

* Chemical Abstracts jsou běžně zkracovány jako CA a pod touto zkratkou je chápán vlastní časopis nebo v širším slova smyslu báze dat, tedy data. CAS je naproti tomu producent, tedy Chemical Abstracts Service.

3. Několik zastavení na stoleté cestě

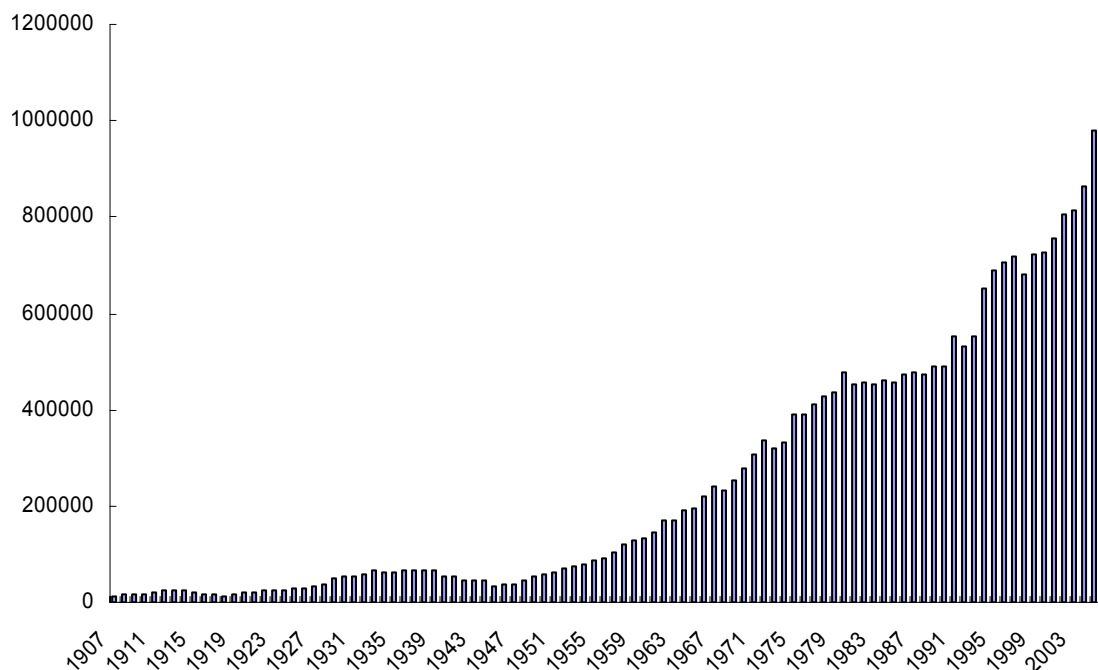
Historie Chemical Abstracts je za sto let pochopitelně velmi bohatá a byla vícekrát popsána prakticky ve všech monografiích pojednávajících o chemických informacích, resp. dříve o chemické literatuře. Velmi podrobně popisuje historii CA např. Maizel ve 3. vydání své knihy¹. Určitě je zajímavé, kdo oněch sto let produkci CA řídil. Jednoduchý výčet je trochu komplikován existencí „Editors“ na samém počátku a „Directors“ zhruba od poloviny období, celkem ale najdeme jen 12 jmen, výhradně mužů, v prvním období s velkou vědeckou reputací, později s reputací expertů v oblasti chemických informací, ale až v současnosti stojí v čele CAS právník a úspěšný manažer v oblasti informačního průmyslu, Robert J. Massie. Ilustruje to jednak šťastnou ruku při výběru „správných“ lidí a pak skutečnost, že v současnosti jsou zřejmě důležitější manažerské schopnosti před vědeckou zkušeností.

To, že práce začínala v r. 1907 se třemi abstrakty na částečný úvazek a dnes má CAS kolem 1200 zaměstnanců, je jedním z velmi názorných ukazatelů růstu. Zajímavá je skutečnost, že prakticky až do skončení 2. světové války byl poměr mezi zaměstnanci na plný a částečný úvazek nejdříve spíše na straně částečných úvazků, později plné úvazky sice převažovaly, ale stále byly srovnatelné. Teprve až v 50. letech začal počet zaměstnanců na plný úvazek narůstat a v r. 1966 už statistiky částečné úvazky neuvádí. Ještě podstatnější je skutečnost, že od samého počát-

ku bylo vytváření abstraktů naprosto převážně zajišťováno externími abstrakty, kterých bylo už v r. 1907 129 a jejichž počet dosáhl maxima v r. 1966, a to 3292. Téměř polovina působila mimo USA, takže lze konstatovat, že po velkou část své existence byly CA v pravém slova smyslu produktem celosvětové chemické komunity. Maizel¹ uvádí, že na počátku šedesátých let více než 3/4 všech abstraktů bylo připraveno externisty. V sedmdesátých letech, hlavně jako důsledek přechodu na elektronické postupy zpracování primárních dat, počet externích abstraktorů postupně klesal a v současné době jsou externisté spíše výjimkou. Větší skupina působí v Japonsku. Neboli téměř vše je „vyráběno“ v sídle CAS.

Už v prvním roce bylo zpracováno 11 847 abstraktů na 3437 stránkách a tato čísla pochopitelně pomaleji i rychleji narůstala, opravdový strmý nárůst začal až po 2. světové válce (obr. 1). Velmi podstatná je skutečnost, že už v prvním roce bylo z výše uvedených 11 tisíc dokumentů 3853 patentů, což je plná třetina a od 2. ročníku se začaly uvádět i odkazy na knihy. Zpracovávání patentů je až do současnosti jednou z nejdůležitějších součástí CA, protože kromě plně komerčních a značně drahých patentovýchází firmy DERWENT, jsou dnes CA stále hlavním zdrojem patentových informací z chemických disciplín.

Stále se zrychlující tempo růstu objemu chemických informací také ilustruje skutečnost, že celkově první milión abstraktů byl dosažen za 30 let práce. Pro další milión bylo třeba o něco víc než polovina (18 let) a shodou okol-



Obr. 1. Růst počtu zpracovaných dokumentů v období 1907–2006 (cit.¹⁰)

ností právě v loňském roce 2006 stačil právě jen jeden jediný rok na zpracování 1 016 669 dokumentů, čímž celkový počet odkazů za 100 let dosáhl téměř 25 milionů.

Zpracovávání dokumentů, článků a patentů, do podoby stručného bibliografického záznamu s abstraktem, samozřejmě vyžaduje systém, v dnešní terminologii systém databázový. A s tím opět souvisí zásady a hloubka indexování, výběr předmětových hesel a jejich systém, citace zdrojů a řada dalších aspektů. Ve většině těchto aspektů ovlivnila politika a zásady CAS nejenom problematiku chemických informací jako takových, ale i vývoj v řadě odvětví chemie. Nejvýrazněji asi v oblasti nomenklatury, stále se řeší otázka, zda používat nomenklaturu podle CAS nebo IUPAC. Bez ohledu na individuální postoj k této otázce je skutečností, že CA a příslušné rejstříky představovaly a stále představují nejrychlejší řešení problému, jak nazvat tu či onu sloučeninu. Obdobnou roli sehrála CAS také v unifikaci bibliografických citací, řada světových chemických periodik, včetně našich, požadovala a požaduje od autorů citace podle CA. A samozřejmě soupis, dnes elektronický v podobě báze dat CASSI, všech zdrojů, ze kterých byl kdy převzat nějaký dokument do CA, představuje neocenitelný zdroj informací o odborných a vědeckých časopisech za 100 let.

Samostatnou kapitolou jsou rejstříky CA, jejich organizace, systém a zpracování, které představují monumentální soubor nástrojů pro jakoukoliv práci s chemickými informacemi. Vzorové rejstříky a rejstříky chemických názvů (dříve součást předmětových rejstříků) představovaly *de facto* soupis všech do té doby známých chemických sloučenin. Už od počátku si editoři uvědomovali důležitost rejstříků a zahájili vydávání víceletých rejstříků, dříve desetiletých a od r. 1957 pětiletých, prakticky vůbec nejdůležitějších částí CA před současnou elektronickou verzí. Zatím poslední z těchto tzv. Collective Indexes CA za léta 1997–2001 zabere na regálu více než 10 m. Určitě není nadsázkou, řekneme-li, že rejstříky CA představovaly klíčovou bránu do světa chemických informací.

4. Nástup počítačových technologií

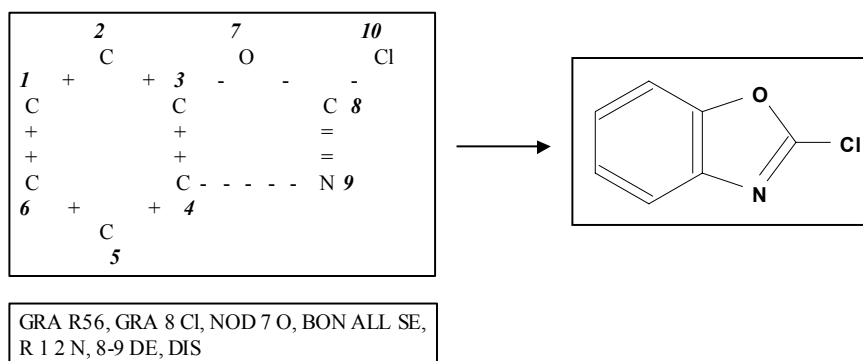
Během stoleté historie bylo nutno učinit řadu více či méně zásadních rozhodnutí, ale včasná orientace na počítačové technologie bylo asi vůbec to nejdůležitější. Především díky jemu CA „přežily“ stále se prodlužující interval mezi vyjitím práce v primárním časopise a jeho abstraktem, protože klasické ruční zpracovávání informací nemohlo rychle narůstajícímu objemu stačit. To byl také důvod, proč *Chemisches Zentralblatt* v r. 1969 přestal vycházet, protože zpoždění dosahovalo téměř 2 roky. I z dnešního hlediska těžkopádné počítačové technologie té doby představovaly obrovský pokrok při zpracovávání abstraktů, protože místo excerpování dat z primárních zdrojů na kartotéční lístky a následné pracné vytváření rejstříků jejich tříděním nabízely nesrovnatelně efektivnější možnosti. Přímou učešnicovou ukázkou počítačové historie je produkce nepochybně prvního „počítačového“ bibli-

ografického časopisu *Chemical Titles*², který CAS začala vydávat už v r. 1961. Znamená to, že počítačová éra trvá pro CA už více než polovinu celé jejich historie. Pro mnohé současníky, kteří žijí v představě, že počítače jsou produktem posledních let, to může být šokující zjištění.

Šedesátá léta je možné označit v pravém slova smyslu za pionýrskou dobu zavádění počítačových technologií do produkce jak CA, tak chemických informací vůbec. Klíčovou otázkou byla pochopitelně identifikace chemických sloučenin, do té doby realizovaná jedinečně prostřednictvím nomenklatury s přispěním sumárních vzorců. Určitě patří k nejprogresivnějším rozhodnutím tehdejšího vedení CAS volba spojovacích tabulek vycházející z teorie grafů jako základní princip reprezentace struktur³. Je nutné si přitom uvědomit, že grafické terminály a grafická rozhraní byly hudbou daleké budoucnosti a tato cesta znamenala mnohem větší nároky na paměťová média tehdejších počítačů. Důsledkem tohoto rozhodnutí je pak dnešní registrační systém chemických sloučenin mající důsledky nejenom v samotné chemii, ale v celé řadě dalších oblastí vědy i veřejného života.

Zásadní orientace na počítačové technologie byla završena počátkem sedmdesátých let stanovením celé řady pevných zásad a pravidel, včetně nomenklaturních. Rozhodným rokem byl rok 1972, jinak začátek dalšího pětiletého rejstříkového období, od kterého si řada, v té době již zkušených uživatelů CA z řad chemiků, začala stěžovat, „... že se teď v abstraktech nedá nic najít“. Důvod spočíval v tom, že nomenklatura se stala důsledně systematickou (CA dovoluje používat jen 8 triviálních názvů), byl vybudován hierarchický systém závazných předmětových hesel a celá řada dalších systémových opatření jako logický požadavek počítačového databázového systému. Uživatelům byl poskytnut jako nástroj Index Guide, doslova průvodce rejstříky, který tyto zásady shrnoval a umožňoval např. zjistit vzájemné vazby a odkazy mezi hesly apod. Naprostá většina tehdy stanovených zásad platí stále.

Po nasazení počítačových technologií do vytváření CA bylo postupně umožňováno využívání těchto technologií i uživateli tak, jak to jejich vývoj dovoľoval. Nejdříve byla poskytována digitalizovaná data na právě dostupných paměťových médiích největším chemickým a farmaceutickým koncernům pro využívání na jejich velkých počítačích. Dalším krokem pak byl produkt nazývaný CA Condensates distribuovaný na magnetických páskách a provozovaný buď na lokálních počítačích velkých chemických firem, nebo v tzv. databázových střediscích. Condensates proto, že se na tehdejší médium nevesly celé záznamy abstraktů, ale jen zkrácené formy. Celé záznamy včetně textů abstraktů a soupisu hesel byly k dispozici obdobnou formou od r. 1978 jako CA Search a strukturální vzorce byly doplněny ve verzi CAS ONLINE kolem r. 1980. Stále ovšem jen na vzdálených databázových centrech. Teprve až ve druhé polovině devadesátých let, kdy médium CD-ROM dosáhlo maxima svých možností, bylo možné nabídnout místo tištěného sešitu každý týden jeden CD disk za měsíc se 4 individuálními sešity, jako elektronickou analogii tištěné verze pod označením CA on CD.



Obr. 2. Strukturální dotaz v osmdesátých letech minulého století a dnes

Postupný vývoj využívání digitální formy CA prošel mnoha stále se zdokonalujícími stadii tak, jak se vyvíjely síťové technologie, paměťová média i koncové stanice, v dnešním chápání tedy osobní počítače. Jen jako malá ilustrace je na obr. 2 naznačena formulace dotazu na strukturu celkem jednoduché sloučeniny 2-chlorbenzoxazolu v osmdesátých letech minulého století a dnes. Jen pro vysvětlení, struktura byla „kreslena“ souborem příkazů GRA, NOD, BON atd., + je dohodnutý znak pro aromatickou vazbu³.

Vývoj využívání počítačových technologií byl završen úplnou digitalizací veškerého materiálu od r. 1907, takže v současné době je možné pracovat pomocí klávesnice a obrazovky s kompletním souborem dat získaných z primárních zdrojů jako s jedním souborem, tedy se všemi informacemi o chemických disciplínách za 100 let. A je nutné dodat, že nástroj, se kterým je dnes možné s tímto souborem pracovat, aplikace označovaná chráněným názvem SciFinder[®], resp. ve verzi pro univerzity jako SciFinder[®] Scholar, je považována za zatím vůbec neefektivnější nástroj pro práci s nejenom chemickými informacemi, ale s vědeckými informacemi vůbec.

5. Registrační systém CAS

Výše zmíněné klíčové rozhodnutí o způsobu grafické reprezentace struktur chemických sloučenin hrálo na počátku hlavní roli při vytváření CA, především při excerpci chemických sloučenin a jejich zařazování do rejstříků. Abstraktoři tak dostali do rukou nástroj, s jehož pomocí mohli rychle zjistit, zda daná struktura už byla zaznamenána nebo je nová, a to bez ohledu na názvoslovné problémy. Při vkládání údajů do počítačové báze dat se tak vytvářelo propojení mezi sumárními vzorci, systematickým názvem nebo i více názvy a graficky vyjádřenou strukturou a vznikl tak záznam (record) shromažďující všechny identifikační data o dané konkrétní sloučenině. Identifikace tako-

vého záznamu, např. jeho automaticky přidělovaná numerická adresa, je tak souhrnnou identifikací dané sloučeniny. Tato forma se po dalším vývoji standardizovala do podoby tzv. Registračního čísla (CAS Registry Number[®], CAS RN)⁴, které se postupně vžilo jako nejuniverzálnější nástroj pro identifikaci chemických látek a sloučenin. Tato čísla jsou vytvářena (přidělována) právě v okamžiku, kdy je do systému zařazována dosud neznámá sloučenina (nebo její i velmi malá modifikace), z čehož plyne, že se jedná o čísla v zásadě pořadová bez jakékoliv vazby na skutečnou strukturu dané sloučeniny. Registrační číslo je tak chemickou obdobou rodného čísla a je jen na CAS, aby zajistila nezaměnitelnost a jedinečnost této identifikace.

Registrační čísla se ukázala být velmi vhodnou formou nejenom pro vyhledávání informací o té které chemické sloučenině v elektronických zdrojích, ale stala se dnes celosvětově užívanou identifikací při prakticky jakýchkoliv manipulacích s chemikáliemi, včetně legislativních předpisů a zákonů. To je nepochybně významný vklad CAS do celosvětové problematiky dohod a jednání o způsobech regulace výroby a užívání chemických látek. Jen z čistě chemického hlediska to přineslo jisté problémy vyplývající právě z kategorického požadavku na identifikaci každé, v praxi se jakkoliv vyskytující, chemické látky a sloučeniny registračním číslem. Řada chemických látek a sloučenin je nabízena na komerční bázi a je tudíž registrovaná a má přiděleno registrační číslo, ale nepatří k ní žádný abstrakt primárního zdroje. To je pak důvod, proč se dnes setkáváme s řadou sloučenin opatřených registračním číslem, o kterých ale nezískáme žádné informace v CA.

Nárůst počtu registračních čísel, tedy počtu známých chemických látek a sloučenin, je ještě více impresivní, než grafem na obr. 1 demonstrováný nárůst počtu abstraktů. Zatímco soubor v r. 1968 měl něco přes 1 milión záznamů, v r. 1990 překročil 10 miliónů, za dalších 10 let se blížil 30 miliónům a na konci r. 2006 to bylo 88,758.285 miliónů. Tato čísla jsou ale poněkud zkršlována postupným rozšiřováním záběru, hlavně zařazováním tzv.

„Sequences“, neboli nejobecněji fragmentů biologických makromolekul. Chemických sloučenin v užším slova smyslu je více než 31 miliónů. Tak, jako jsme dříve hledali informace o chemických sloučeninách ve vzorcovém rejstříku nebo rejstříku chemických názvů, tak máme dnes k témuž účelu bázi dat CAS REGISTRYSM, která je sice součástí souboru bází dat CA, ale identifikuje se samostatně.

6. Chemical Abstracts v našich zemích

Je samozřejmé, že i v českých a slovenských institucích byly CA běžně využívány, ještě v šedesátých letech minulého století existovalo kolem 50 předplatných. Pak začal tento počet rychle klesat, jednak pro nedostatek deviz, jednak omezováním cenově výhodných tzv. členských předplatných. U nás existují pravděpodobně jen dva kompletní soubory tištěných CA od 1. svazku z r. 1907, jeden na VŠCHT v Praze a druhý na Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR. Jsou ovšem kompletní do ukončení odběru tištěných sešitů, k čemuž docházelo koncem 90. let. Předplatné dále pokračuje pro verzi CA on CD a pravděpodobně i v podobě tzv. CA SelectsTM, neboli jako úzce oborově zaměřené tištěné sešity.

Dnes ale již jen klesající počet pamětníků ví, že přes nepřízeň politické a ekonomické situace, jsme měli možnost se na nástupu počítačových technologií a celém postupném vývoji zpracovávání a zpřístupňování CA podílet ve velmi širokém měřítku. Počátkem sedmdesátých let se totiž vytvořila příznivá konstelace zájmu o počítačové informační zdroje na straně jedné a skupinou poučených chemiků na straně druhé, jehož výsledkem byl nákup tehdy právě uváděné na trh báze dat CA Condensates na magnetických páskách. Takže už od r. 1972 bylo možné na počítačích tehdejší Ústřední technické základny UVTEIN (dnešní Ministerstvo informatiky) pracovat s touto verzí CA, ovšem jen vsádkově na základě předem formulovaných dotazů. Přípravu dotazů zajišťovala Skupina strojových rešerší Ústřední informační služby chemie, součást Výzkumného ústavu technických a ekonomických informací chemického průmyslu, která v době své největší aktivity zpracovávala a rozesílala až 2800 rešerší týdně. Počátkem osmdesátých let se pak nakupovaly pásky s verzí CA Search, tedy už plná verze záznamů CA a tato praxe trvala až do r. 1992, kdy byl nákup pásek financovaný ze státního rozpočtu ukončen. Dokonce byl již v r. 1979 provozován „online“ přístup, ovšem jen na několika pracovištích, a to do báze Chemistry Industry Notes (CIN), což je stále existující přidružená báze k CA⁵. Koncem osmdesátých let pak už bylo možné pracovat prostřednictvím telefonních linek a modemů i s bází CA Search v širším měřítku. Takže jsme měli možnost plných 20 let využívat prakticky stejné technologie přístupu k informacím CAS jako vespole země. Zda a jak tato úroveň přístupu ovlivnila náš výzkum, může být pochopitelně předmětem diskuse, v každém případě jsme měli možnost získat praktické zkušenosti s využíváním informací v digitální podobě, což se nepo-

chybně v následné, už politicky neovlivněné etapě určitě zúročilo.

7. SciFinder[®]

Bylo by určitě velmi zajímavé zjistit, kolika chemikům je tento pojem v současnosti všeobecně známý a kolika vůbec nic neříká. Ti šťastnější, kteří už jeho prostřednictvím mohou s CA pracovat, už dnes tvrdí, že si bez něj nedovedou práci vůbec představit. V každém případě je to další ilustrace, jak si CAS dokáže stále držet vedoucí postavení v oblasti vědeckých informací ve zcela obecném slova smyslu. Je naprosto logické, že tak zásadní změna šíření vědeckých poznatků, jakou nabízejí počítačové a síťové technologie, nemůže zůstat na úrovni převádění stávajících tištěných zdrojů do digitální podoby, ale musí se orientovat na využití možností, které tyto technologie nabízejí.

SciFinder[®] je počítačová aplikace, můžeme říci klient, který umožňuje vysoce efektivním způsobem pracovat s excerpovaným materiálem CA, tedy s bibliografickými citacemi, abstrakty, názvy a strukturami sloučenin, ale i s jejich reakcemi a celou řadou dalších informací, které CAS při své činnosti nasbírala⁶. V jedné aplikaci tak pracujeme se všemi individuálními a navzájem propojenými rejstříky, včetně takových, které v tištěné podobě neexistují.

Tato aplikace je koncipována jako maximálně intuitivní, neboli umožňující pracovat prakticky bez jakýchkoliv školení a manuálů. Budiž konstatováno, že tak úplně to není pravda, ale to už není ani tak chyba této aplikace, ale jen důsledek toho, že chemie není jednoduchá věda a tudíž ani vyhledávání vědeckých informací v tomto vědním oboru nemůže být zcela primitivní. V každém případě není na uživateli vyžadováno, aby nějak formuloval svůj dotaz pomocí logických operátorů a už vůbec nemusí znát označování databázových polí nebo jiných detailů databázové struktury. Koncepční dotaz, tedy dotaz, který je formulován pomocí textových hesel a výrazů, může být zadán formou věty v lingvistickém slova smyslu a je ponecháno na této aplikaci, aby z ní vytvořila formálně správný dotaz. Nejedná se přitom o žádný postup v oblasti umělé inteligence, ale jen o důslednou aplikaci současných možností počítačových technologií, které mohou ze zapsané věty (myšlenky) vybrat významově důležité termíny, porovnat je se svým slovníkem a zkombinovat všechny logické alternativy současně s algoritmicke zabudovaným požadavkem na blízkost výrazů. Již zmíněný Index Guide, který umožňoval nalezení jedině použitých závazných termínů a odkazoval na synonyma nebo příbuzné termíny, je jednoduše zabudován do této aplikace evidentně spolu s řadou dalších nástrojů⁷. Obdobně jsou sloučeny vzorcové a názvoslovné rejstříky a propojení s bází CAS REGISTRYSM pak nabídne všechny struktury, které vyhovují jak vzorci, tak i názvu a pochopitelně nakreslené strukturně, včetně možnosti struktury modifikovat a vyhledávat tzv. substruktury, neboli struktury vnořené do složitějších struktur.

8. Jaké jsou současné možnosti práce s Chemical Abstracts ?

Počítačové technologie nacházely uplatnění nejdříve při vlastním zpracovávání primárních informací a teprve v poslední době došlo k jejich aplikaci také na straně uživatelů, chemiků v laboratořích i průmyslu. Paradoxně ale nástup těchto aplikací do určité míry zkomplikoval práci s CA v tom smyslu, že tradiční možnost, tj. navštívit nejbližší odbornou knihovnu, totiž už bohužel nemusí vést k cíli. Jaké jsou tedy vlastně současné možnosti pracovat s CA?

Především je nutné si uvědomit, že i když CAS zpracovává primární zdroje v zásadě koncepčně stále stejným způsobem, tj. primární dokument nejenom zaznamená jako bibliografickou citaci a indexuje jej z hlediska obsahu a tematiky, ale také z něho excerpuje studované chemické sloučeniny i jejich vzájemné vztahy a v posledních letech excerpuje i fyzikálně-chemická data, má dnes daleko větší možnosti, jak takto získaný materiál nabídnout chemikům a také je široce využívá. Pro přehlednost je současná nabídka sumarizována v tabulce I.

Z uvedeného přehledu vyplývá nepříjemný závěr, že chemik, který nepracuje na instituci, která některou z uvedených forem předplácí (přesněji řečeno, má licenci na její využívání) nebo i zájemce z jiných vědních oborů, nemá moc možností na vybranou a může dospět k závěru, že se k tomuto zdroji jednoduše nedostane. Předplatné tištěných verzí bylo většinou ukončeno kolem r. 1997 až 1998, takže v současné době už je v našich knihovnách téměř desetiletá mezera. Forma CA on CD je formálně pokračováním tištěné verze⁸ a pokud je realizováno ukládání postupně zasílaných disků na lokální server zpřístupňující data v místní síti včetně knihovny, představuje to logické pokračování a přesun od regálů k počítači v knihovně nebo na pracovišti. Bohužel, producent od r. 2002 striktně upozorňuje na vstupní obrazovce jednotlivých ročníků, že přístup je dovolen jen pracovníkům předplácející instituce.

Elektronické báze dat CA, CAPLUS[®] a CAS REGISTRYSM jsou v úplné verzi od r. 1907 přístupné v databázovém středisku STN International bez jakýchkoliv podobných omezení, ovšem podmínkou je otevření uživatelského účtu na tomto středisku a přistoupení na formu úhrady např. fakturou na základě počtu zobrazených odkazů, vzorců i zadaných dotazů a doby připojení k těmto bázím. Tato forma představuje mimořádně silný nástroj, který umožňuje maximálně využít potenciál excerpaných dat včetně i velmi detailních požadavků. Na druhé straně je ale nutné přijmout existenci dotazovacího jazyka, který sice není mimořádně složitý, ale přece jenom předpokládá určitou praxi a rutinu. Proto je tato forma využívána převážně největšími chemickými koncerny, které zaměstnávají profesionální rešeršéry s uplatněním především při patentových rešerších. Existuje ale i jednodušší nástroj, tzv. STNEasy, nicméně i zde je jedině možná forma úhrady platba podle objemu převzatých informací.

Konečně již zmíněný SciFinder[®] představuje mimo veškerou pochybnost téměř ideální nástroj pro práci s CA i s chemickými informacemi vůbec. Jeho jedinou nevýhodou a problémem je, že je striktně přístupný jen pracovníkům průmyslového výzkumu nebo univerzity, které si předplácejí licenční vstup a licenční poplatky jsou mimořádně vysoké. Ceny jsou sdělovány zájemcům na požádání, pro orientaci je možné jen uvést, že je značný rozdíl v ceně, kterou platí průmyslový subjekt a univerzita, ale i pro tu se základní poplatek pohybuje kolem 1 miliónu Kč, a to za jeden současný vstup do systému. Je pravdou, že CAS nabízí značné slevy pro ty univerzity, které poskytují jen bakalářskou úroveň (50 %), nejvyšší cena platí pro univerzity s PhD programem v chemii a i zde je možnost využít tzv. „packages“ zvýhodňující několikanásobné přístupy. V každém případě je práce s programem SciFinder[®] velmi nákladná a hlavně pro chemické katedry na víceoborových univerzitách nebo pro menší chemické průmyslové podniky jen těžko dostupná.

Tento přehled současných možností využívání materiálů CA tak není pro ty chemiky, kteří nemají to štěstí, že

Tabulka I

Přehled současných možností využívání informačních produktů CAS

Skupiny informačních produktů CAS	Možnost využívání
Tištěné sešity, půlroční a pětileté rejstříky, skupiny sekcí a specializované sešity CA Selects	Tradičně volný přístup v knihovnách, v současné době žádná knihovna v České republice plnou verzi tištěných CA nepředplácí
Verze na CD-ROM, CA on CD, rejstřík periodik CASSI a báze dat regulovaných látek	Principiální možnost ukládání dat na lokální server a zpřístupnění v místní síti, od r. 2002 je přístup omezen jen na pracovníky předplácející instituce
Elektronické báze CA, CAPLUS [®] a báze dat REGISTRY pokrývající celé období od 1907	Vzdálený přístup na databázové středisko STN International na základě účtu a hesla
Přístup k celému objemu dat prostřednictvím programu SciFinder, resp. SciFinder Scholar	Institucionální přístup pro průmyslové podniky nebo univerzity

pracují na instituci, která do přístupu k elektronickým zdrojům investuje, příliš povzbudivý, což je bohužel skutečnost a také předmět stížností jak z průmyslového, tak i univerzitního prostředí⁹. Uvážíme-li na druhé straně současný objem primárních informací, který je v CAS zpracováván včetně stále stoupající úzké specializace vyžadující stejný rozsah znalostí od excerpторů a také stále stoupající náklady na produkci bázi dat, není se zase až tak moc co divit.

9. A co dál ?

Přes nepochybně zcela dominantní postavení v oblasti chemických informací je nutné se nad další budoucností Chemical Abstracts zamyslet. Hlavní starost představuje stále rychlejší nárůst objemu produkovaných vědeckých informací a z toho vyplývající stále stoupající náklady na jejich zpracovávání a v konečném výsledku pak cena jejich využívání. Méně viditelná, ale stejně závažná je stoupající komplexita zveřejňování výsledků výzkumu jdoucí do detailů daného problému bezprostředně srozumitelných jen úzké skupině přímo zainteresovaných specialistů. To pak klade odpovídající nároky na šíři znalostí excerpторů a opět zvyšuje náklady na zpracování primárních zdrojů, protože velmi důležitým aspektem produktu, jako je CA, je spolehlivost a přesnost zpracovaných materiálů. To jsou obecné problémy většiny sekundárních zdrojů, ale především takových, které jsou od počátku založeny na intelektuálním, tedy „ručním“ zpracovávání primárních zdrojů. A k těm CA určitě patří.

Zatím se zdá, že jakékoliv automatizované zpracovávání tak komplexních vědeckých informací, jaké jsou obsaženy v typické publikaci z chemických disciplín, je hrdou vzdálené budoucnosti, i když i CAS už určitě využívá a bude využívat všech postupně dosahovaných úspěchů na tomto poli jako více či méně užitečné nástroje usnadňující vlastní lidskou excerpční práci. I když se zdá, že CA nemá v současné době prakticky žádnou alespoň částečně srovnatelnou konkurenci, budoucnost závisí především od toho, zda chemický výzkum bude ochoten investovat do kvalitních informačních zdrojů stále vyšší finanční prostředky. Takže se na závěr nabízí otázka pro věstce: Budou Chemical Abstracts existovat za dalších sto let?

LITERATURA

1. Maizel R. E., v knize: *How to Find Chemical Information*, 3. vyd., str. 60. John Wiley & Sons, New York 1998.

2. Šilhánek J.: *Chemická informatika*. Vydavatelství VŠCHT, Praha 2002.
3. Šilhánek J.: Chem. Listy 91, 237 (1997).
4. Weisgerber D. W.: J. Am. Soc. Inf. Sci. 48, 349 (1997).
5. Kalousek J., Vlasák R., Koniček J.: Čs. Informatika 21, 340 (1979).
6. Ridley D. D.: *Information Retrieval: SciFinder[®] and SciFinder[®] Scholar*. J. Wiley, New York 2002.
7. Wagner A. B.: J. Chem. Inf. Model. 46, 767 (2006).
8. Šilhánek J., Zetková L.: *Chemical Abstracts na CD-ROM*. Vydavatelství VŠCHT, Praha 1997.
9. Flaxbart D.: Issues in Science & Technology Librarianship (ISTL), *Winter 2007*, staženo z <http://www.istl.org/dne16.2.2007>.
10. CAS[®], Statistical Summary 1907–2006; staženo z <http://www.cas.org/EO/casstats.pdf> dne 10.4.2007.

J. Šilhánek (*Department of Organic Technology, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Hundred Years of Chemical Abstracts – Hundred Years of History of Chemistry, 1907–2007**

The world most important source of chemical information, Chemical Abstracts (CA), is celebrating hundred years of its existence. This is undoubtedly a good reason for summarizing at least the most important steps and to look both back and ahead. To abstract and index most of the published results of chemical research has been definitely the main and crucial role of this service and the material collected represents actually compressed history of chemical research in the last 100 years. The CA played also an extremely important role in listing and identification of all known chemical compounds through a registry system resulting in indispensable CAS REGISTRY database, which now approaches 100 million items. Among many and sometimes quite difficult decisions, the very early orientation on computer technology was the most important and this is the basis for the present unbeatable position of CA on the chemical information market. The most prestigious product of computer methodology is the SciFinder, which is probably the most sophisticated and efficient tool for searching scientific information. The only complaint is the price of CA, which is unfortunately closely related to ever-increasing production of new chemical information and to the commitment of CA to keep a very high standard of quality of the information products.

UPLYNULO 10 LET PLATNOSTI ÚMLUVY O ZÁKAZU CHEMICKÝCH ZBRANÍ

LADISLAV STŘEDA a MARKÉTA BLÁHOVÁ

*Státní úřad pro jadernou bezpečnost, Odbor pro kontrolu nešíření zbraní hromadného ničení
Oddělení pro kontrolu zákazu chemických zbraní, Seno-
vážné náměstí 9, 110 00 Praha 1
Marketa.blahova@sujb.cz*

Mezinárodní společenství vyvinulo značnou iniciativu směřující k identifikaci zbraní hromadného ničení, zabránění jejich vývoje, výroby a šíření do rizikových států. V oblasti zákazu chemických zbraní se jedná o Úmluvu o zákazu vývoje, výroby, hromadění zásob a použití chemických zbraní a o jejich zničení (Convention on the Prohibition of the Development, Production, Stockpiling and Use of Chemical Weapons and on their Destruction – CWC, dále jen Úmluva). Česká republika uložila ratifikační listiny k Úmluvě do depozitáře v New Yorku dne 6. března 1996 jako 48. smluvní stát Úmluvy.

Od vstupu Úmluvy v platnost uplynulo 29. dubna letošního roku 10 let. Úmluva je prvním komplexním mechanismem, který směřuje k likvidaci celé jedné kategorie zbraní hromadného ničení a současně stanovuje opatření pro kontrolu plnění tohoto závazku. Hlavním cílem Úmluvy, vyjádřeným v její preambuli, je zcela vyloučit v zájmu všeho lidstva možnost použití chemických zbraní. Splnění tohoto záměru představuje nejen likvidaci stávajících arzenálů chemických zbraní a zabránění šíření chemických zbraní resp. komponent pro jejich výrobu, ale současně předpokládá vytvoření účinného systému, který pomůže státům chránit se v situacích, kdy by přes veškeré úsilí o zákaz chemických zbraní byly tyto zbraně použity.

Úmluva v současnosti zahrnuje 182 smluvních států, dalších 6 států (Bahamy, Kongo, Dominikánská republika, Guinea-Bissau, Izrael, Myanmar) úmluvu podepsalo, ale dosud neratifikovalo a 8 států zatím Úmluvu nepodepsalo (Angola, Korejská lidově demokratická republika, Egypt, Irák, Libanon, Somálsko, Syrská arabská republika). Důvodem dosavadního nepřistoupení některých z těchto států jsou mj. finanční náklady spojené s členstvím v Organizaci pro zákaz chemických zbraní, u některých jiných států však panuje nejistota ohledně jejich možného vlastnictví chemických zbraní.

Úmluva stanoví pro smluvní státy obecný zákaz vývoje, výroby, jiného způsobu nabývání, hromadění nebo přechovávání chemických zbraní, jejich použití a podílení se na vojenských přípravách použití chemických zbraní. Smluvní státy rovněž nesmí jakýmkoliv způsobem nikomu pomáhat, ani jej podporovat či navádět k jakékoli činnosti, které Úmluva zakazuje. Zákaz se rovněž vztahuje na použití chemických prostředků určených pro potlačování nepokojů (tj. např. dráždivé a zneschopňující látky) jako

metody vedení války. Vedle zákazů Úmluva pro smluvní státy stanoví, které vlastní zásoby chemických zbraní nebo objekty pro jejich výrobu, povinnost tyto zásoby, resp. objekty zlikvidovat.

Ochrana před nebezpečím možného použití chemických zbraní by nebyla úplná, kdyby spočívala pouze v likvidaci stávajících zásob tohoto druhu zbraní. Chemický průmysl po celém světě denně produkuje velké množství chemických látek, z nichž některé by mohly být potenciálně použity k výrobě chemických zbraní. Z tohoto důvodu Úmluva rovněž upravuje verifikační mechanismy zaměřené na kontrolu aktivit v rámci chemického průmyslu, které nejsou zakázány, aby se zamezilo případnému zneužití relevantních chemických látek.

Všechny smluvní státy Úmluvy, jakožto její adresáti, mají povinnost vělenit do svých národních právních ráždů požadavky, které z Úmluvy vyplývají. To se týká především zákazu činností zakázaných Úmluvou pro fyzické a právnické osoby spadající pod jurisdikci dotčeného státu, a dále úpravy odpovídajících sankcí za případná porušení tohoto zákazu. Pro implementaci Úmluvy na národní úrovni mají smluvní státy povinnost zřídit tzv. národní úřady, které jsou koordinačními místy pro činnosti vztahující se k cílům Úmluvy.

I přes pokročilé verifikační mechanismy a záruky, které Úmluva poskytuje, nelze samozřejmě vyloučit nebezpečí použití chemických zbraní. Za tímto účelem Úmluva podporuje vývoj národních programů ochrany a pomoci a stanoví postup při skutečném ohrožení či napadení smluvního státu chemickými zbraněmi.

Pro implementaci požadavků vyplývajících z Úmluvy byla vytvořena Organizace pro zákaz chemických zbraní se sídlem v Haagu (Organization for the Prohibition of Chemical Weapons, dále OPCW). Úkolem OPCW je především monitorování a verifikace likvidace existujících zásob chemických zbraní a objektů pro jejich výrobu a kontrola nešíření chemických zbraní zahrnující monitoring chemického průmyslu včetně přeshraničního pohybu chemických látek, které jsou z hlediska Úmluvy relevantní. Dalšími oblastmi činnosti OPCW je koordinace ochrany před nebezpečím použití chemických zbraní a mezinárodní spolupráce v rámci využívání chemického průmyslu pro mírové účely.

Hlavním orgánem OPCW, podobně jako u jiných verifikačních režimů mezinárodních smluv, je Konference smluvních států, jež je oprávněna přijímat všechna důležitá rozhodnutí týkající se procesu implementace Úmluvy. Konference se koná pravidelně jednou ročně, jejími členy jsou všechny smluvní státy Úmluvy. Vedle toho Úmluva rovněž stanoví povinnost svolání zvláštního zasedání konference v pravidelných dlouhodobějších intervalech za účelem zhodnocení dosavadní implementace jejich požadavků.

Výkonná rada je exekutivním orgánem OPCW. Sestává ze 41 smluvních států, které jsou do ní voleny na bázi regionálního zastoupení na dobu 2 let. Výkonná rada přijímá rozhodnutí a doporučení, které předává ke schválení Konferenci smluvních států.

Technický sekretariát uskutečňuje kontrolní opatření stanovená Úmluvou, pomáhá Konferenci a Výkonné radě při plnění jejich funkcí, a plní další úkoly, které pro něho vyplývají z Úmluvy, nebo kterými ho Konference, případně Výkonná rada pověří. Má cca 500 pracovníků a v jeho čele stojí generální ředitel.

Za 10 let od svého vstupu v platnost byla v rámci Úmluvy dosažena řada pozitivních výsledků. Z celkově deklarovaných 71 330 tun bojových chemických látek obsažených v 8,67 mil kusů munice a zásobnicích bylo dosud zlikvidováno celkem 22 638 tun bojových chemických látek a 2,73 mil. kusů chemické munice a velkoobjemových zásobníků. Všech 65 objektů pro výrobu chemických zbraní bylo uzavřeno a podléhá přísnému verifikačnímu režimu. Bylo zlikvidováno celkem 42 objektů, 19 objektů pro výrobu chemických zbraní bylo certifikováno jako konvertované na objekty pro mírové účely.

Přes určitý pokrok v této oblasti je nutno konstatovat, že základní pilíř a cíl Úmluvy, tj. likvidace chemických zbraní a objektů pro jejich výrobu do roku 2007, zatím nebyl splněn. Všech 6 států, vlastnicích chemické zbraně, požádalo o prodloužení termínu na jejich likvidaci, (Ruská

federace a Spojené státy americké do 29. dubna 2012). 11. Konference smluvních států Organizace pro zákaz chemických zbraní v prosinci 2006 toto prodloužení lhůty schválila. Zůstává ale otázkou, zda i toto prodloužení bude dostatečné a v roce 2012 budou veškeré chemické zbraně zlikvidovány.

Značná pozornost je v rámci implementace Úmluvy věnována problematice kontroly nešíření chemických zbraní. Smluvní státy Úmluvy deklarovaly celkem 6346 objektů chemického a farmaceutického průmyslu, které buď nakládají s chemickými látkami podle seznamů Úmluvy, nebo vyrábějí určité organické chemické látky. Inspektoři technického sekretariátu Organizace pro zákaz chemických zbraní uskutečnili v této oblasti dosud celkem 2876 inspekci na 1052 deklarovaných místech.

Přes problémy, před kterými Organizace pro zákaz chemických zbraní nyní stojí, lze konstatovat, že chemické odzbrojení je v současné době jediným, úspěšně probíhajícím procesem z hlediska likvidace zbraní hromadného ničení. Urychlení procesu likvidace chemických zbraní bude pochopitelně i nadále patřit mezi hlavní úkoly této organizace. Pro dosažení stavu úplného chemického odzbrojení je nezbytné dosáhnout i plné univerzality Úmluvy, přistoupení všech států, které tak dosud neučinily. Jedině tím, že všechny státy světa budou podrobeny účinné mezinárodní kontrole, lze dosáhnout, že proces chemického odzbrojení bude naplněn.

Ze života chemických společností

Odborná skupina pro chemické vzdělávání České společnosti chemické v období 2004–2006

Odborná skupina pro chemické vzdělávání ČSCH se v letech 2004–2006 aktivně podílela na dění v oblasti chemického vzdělávání u nás i v zahraničí. Její práci řídil a koordinoval do konce r. 2005 výbor skupiny, zvolený ve volbách r. 2002. V r. 2005 skončilo jeho čtyřleté volební období, a proto byly zorganizovány v průběhu dubna 2006 korespondenční volby nového výboru odborné skupiny, kterých se účastnilo asi 30 % členů skupiny. Členy výboru byli zvoleni (v pořadí podle počtu hlasů): prof. Čtrnáctová (UK PŘF), prof. Bílek (UHK PedF), doc. Banýr (UK PedF), prof. Beneš (UK PedF), prof. Kolář (UHK PedF), doc. Solárová (OU PŘF), doc. Klečková (UP PŘF), dr. Koloros (G Tábor), dr. Lichtenberg (G Č. Budějovice), dr. Sirotek (ZČU PedF) a dr. Šibor (MU PedF). Předsedkyní výboru byla zvolena prof. Čtrnáctová, místopředsdou prof. Bílek a tajemníkem doc. Banýr. Vzhledem k nenadálému úmrtí doc. Banýra na podzim r. 2006 byl na jeho místo člena výboru kooptován prof. Liška (UK PedF), novým tajemníkem výboru byl zvolen dr. Sirotek.

Nový výbor navázal na činnost skupiny v předchozím období. Pozornost zaměřil na rozvoj chemického vzdělávání na všech jeho úrovních, počínaje 1. a 2. stupněm základní školy, přes výuku chemie na všech typech středních škol, vysokoškolskou výuku chemie a chemické vzdělávání pro dospělé odborníky (kurzy pro vyučující chemie) i laiky (přednášky pro veřejnost, Univerzita 3. věku aj.).

Mezi nejdůležitější akce, na jejichž pořádání se odborná skupina podílela, patřila v r. 2004 mezinárodní konference *Aktuální stav a vývojové trendy ve vyučování chemie*, kterou v květnu pořádala Přírodovědecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislavě. Jednáni konference se účastnilo více než 60 pracovníků z České republiky, Slovenska a Polska. Na přelomu června a července se konal *Mezinárodní seminář didaktiků chemie*, který pořádala Pedagogická fakulta MU Brno. Byl zaměřen především na problematiku připravovaných rámcových vzdělávacích programů. Semináře se účastnilo cca 40 pracovníků z České republiky a Slovenska. Zajímavé bylo také jednání sekce *Chemické vzdělávání, chemická informatika a historie chemie* na 56. sjezdu chemických společností, který se konal v září na TU v Ostravě a mezinárodní seminář *Využití počítačů ve výuce chemie*, který v září pořádala Pedagogická fakulta Univerzity Hradec Králové.

V květnu 2005 se uskutečnila ve Smolenicích mezinárodní konference *Aktuální stav a vývojové trendy ve vyučování chemie*, kterou organizovala Pedagogická fakulta Trnavské univerzity. Účastnilo se jí téměř 80 pracovníků z České republiky, Slovenska a Polska. Na 57. sjezdu chemických společností, který se konal na počátku září 2005 ve Vysokých Tatrách, aktivně působila sekce *Chemické vzdělávání, chemická informatika a historie chemie*. Mezi-

národní konference didaktiků chemie se konala v polovině září 2005 na Katedře chemie Pedagogické fakulty Univerzity Hradec Králové.

V červnu 2006 byla uspořádána Přírodovědeckou fakultou Ostravské univerzity mezinárodní konference *Aktuální aspekty pregraduální přípravy a postgraduálního vzdělávání učitelů chemie*, které se účastnilo 75 pracovníků z České republiky, Slovenska a Polska. Další významnou akcí byla naše aktivní spoluúčast na 58. sjezdu chemických společností v sekci *Výuka, informatika a historie chemie*, pořádaným v září 2006 v Ústí n. Labem a mezinárodní seminář *Soudobé trendy v chemickém vzdělávání*, který v září pořádala Pedagogická fakulta UHK v Hradci Králové. V říjnu 2006 se uskutečnila v Donovalech mezinárodní konference na téma *Současnost a perspektivy didaktiky chemie*, kterou organizovala Přírodovědecká fakulta UMB v Banské Bystrici. Účastnilo se jí téměř 60 pracovníků z České republiky, Slovenska a Polska.

V letech 2004–2006 bylo zorganizováno celkem šest seminářů pro všechny zájemce z odborné skupiny na tato témata: *Člověk a příroda – rámcové vzdělávací programy* (duben 2004), *Počítačové modelování ve výuce chemie* (prosinec 2004), *Práce studentů jako inspirace pro vyučující chemie* (květen 2005), *Člověk a příroda – rámcové vzdělávací programy pro střední školy* (listopad 2005), *Školní chemické pokusy – nově a netradičně* (květen 2006) a *ŠVP v praxi – nové přístupy, nápady a zkušenosti* (prosinec 2006).

K nejvýznamnějším zahraničním akcím r. 2004 patřilo nepochybně *11. celosvětové sympozium Mezinárodní organizace pro přírodovědné vzdělávání (IOSTE)*, které se konalo na konci července v Lublinu (Polsko), *18. celosvětová konference organizace IUPAC o chemickém vzdělávání* v srpnu v Istanbulu (Turecko) a *7. Evropská konference o výzkumu v chemickém vzdělávání (ECRISE)* a *3. Evropská konference o chemickém vzdělávání (ECCE)*. Konference pořádala na konci srpna 2004 Univerzita Ljubljana spolu s Divizí chemického vzdělávání FECS v Ljubljani (Slovinsko). Byly spojeny s výročním zasedáním Divize chemického vzdělávání. Konferencí se účastnilo více než 100 odborníků z 20 zemí. Konferencí i zasedání Divize se účastnila prof. Čtrnáctová jako zástupce ČR a místopředseda Divize pro střední a východní Evropu.

Mezi nejvýznamnější akce r. 2005 patřila evropská konference *European Variety in Chemistry Education*, pořádaná v červenci 2005 Jagiellonian University a Divizí chemického vzdělávání EuCheMS (dříve FECS) v Krakově (Polsko), jejíž součástí bylo také výroční zasedání Divize pro chemické vzdělávání. Další významnou akcí byla *5. konference evropské asociace pro výzkum v přírodovědném vzdělávání (ESERA)*, kterou pořádala v srpnu 2005 Univerzita v Barceloně (Španělsko). Konference se účastnilo více než 350 odborníků z 35 zemí.

Nejvýznamnější zahraniční akcí r. 2006 bylo 12. celosvětové sympozium Mezinárodní organizace pro přírodovědné vzdělávání (IOSTE), které se konalo na přelomu července a srpna v Penangu (Malajsie) a 1. Evropský chemický kongres, který probíhal na konci srpna v Budapešti (Maďarsko). Každé z těchto akcí se účastnilo více než 300 osob z 50 zemí světa. Na začátku září se pak konala v Budapešti 8. Evropská konference o výzkumu v chemickém vzdělávání (ECRISE), na níž navázalo výroční zasedání Divize chemického vzdělávání EuCheMS. Zasedání se účastnila prof. Čtrnáctová jako zástupce ČR a místopředseda Divize pro střední a východní Evropu a informovala zde mj. o připravované konferenci EURO-VARIETY Praha 2007.

V letech 2004–2006 pokračovala spolupráce odborné skupiny a vysokých škol, kde byla pozornost zaměřena především na realizaci třístupňového učitelského studia chemie na přírodovědeckých a pedagogických fakultách, a to studia bakalářského, magisterského i doktorského. Doktorské studium *Vzdělávání v chemii*, akreditované od podzimu 2003 na PřF UK, bylo zahájeno ve šk. r. 2004/05. V současnosti studuje v 1.–3. ročníku studia 36 studentů.

Pokračovala také spolupráce s rezortními ústavy MŠMT ČR – VÚP, NÚOV a ÚIV-CERMAT. Členové skupiny se podíleli na přípravě nových vzdělávacích programů i maturitních zkoušek. Organizovali a vedli přednášky a semináře dalšího vzdělávání učitelů chemie ZŠ a SŠ v rámci aktivit vysokých škol, pedagogických center nebo projektů ESF EU.

V průběhu roků 2004–2006 byl ukončen 40. ročník chemické olympiády (CHO), proběhl 41. a 42. ročník CHO a byl zahájen 43. ročník CHO. Členové odborné skupiny se podíleli na přípravě úloh všech kategorií CHO, na realizaci obvodních a oblastních kol olympiády i na přípravě a organizaci celostátního kola kategorie A a E ve Zlíně (2004), v Pardubicích (2005) a v Praze (2006). Nejúspěšnější studenti se účastnili 36. ročníku Mezinárodní chemické olympiády (MCHO) v r. 2004 v SRN, 37. ročníku MCHO v r. 2005 v Thajsku a 38. ročníku MCHO v Jižní Korei.

Činnost odborné skupiny je tedy i nadále velmi mnohotvárná a byli bychom velmi rádi, aby o ní byli informováni a účastnili se jí nejen členové odborné skupiny pro výuku chemie ČSCH, ale i další zájemci o chemické vzdělávání z řad členů ČSCH.

Hana Čtrnáctová

Sjezd maďarských chemiků a oslava 100. výročí vzniku Maďarské chemické společnosti

Ve dnech 29. 5 – 1. 6. 2007 se konal sjezd Maďarské chemické společnosti (MCS) spojený s oslavou 100. výročí jejího založení. Sjezdová jednání probíhala v příjemném prostředí lázeňského města Sopron v kongresovém centru Ference Liszta a účastnilo se jej více než 700 domácích chemiků a 80 zahraničních účastní-



Česko-slovenská delegace

ků. Po úvodním projevu odstupujícího předsedy prof. Alajose Kálmána následovaly zdravice reprezentantů pozvaných zahraničních chemických společností (Americké, České, Finské, Rakouské, Slovenské a Slovinské chemické společnosti) a prezidenta Evropské asociace pro chemii a molekulární vědy prof. Giovanni Natileho. Zdravice, které byly organizátorům zaslány v anglickém jazyce, byly rovněž přeloženy do maďarštiny a jsou součástí Sborníku sjezdu. Předsedovi MCS A. Kálmánovi jsem kromě zdravice ČSCH předala pamětní medaili UP jako ocenění příspěvku tohoto významného krystalografického chemika k rozvoji maďarsko-českých vztahů. Zlatou medailí ocenila vědeckou činnost prof. Kálmána Slovenská chemická společnost. Medaili předal předseda SCS Viktor Milata. Po této části byla předsedou MCS předána ocenění řadě maďarských chemiků a studentům středních škol reprezentujících maďarskou chemii na národních a mezinárodních kolech chemických olympiád. Pro nás bylo překvapením, jak studium chemie je pro maďarskou mládež zajímavým a přitažlivým oborem. Sjezd byl sponzorován významnými maďarskými a mezinárodními společnostmi jako např. MOL, Guedon-Richter, Sanofi-Aventis, Sigma-Aldrich, Merck a další. Zástupci těchto firem se rovněž účastnili slavnostního zahájení. Prvním plenárním přednášejícím byl prof. Attila Pavláth a tématem byly perspektivy získávání energie z alternativních zdrojů. Přednášející se zaměřil zejména na řízené řetězové jaderné reakce a budoucnost tohoto zdroje energie. Po přestávce druhý přednášející – Gyorgy Fráter hovořil na téma pokroků v kosmetické chemii, v oboru, ve kterém maďarská chemie má významné postavení v Evropě. První den sjezdu byl zakončen setkáním všech účastníků v hotelu Sopron. Zde jsem se setkala s kandidátem na funkci předsedy MCS prof. Peterem Matyusem ze Semmelweisovy univerzity, který potvrdil zájem MCS o rozšíření spolupráce především v práci s mladými chemiky. Jednání se účastnil za ČSCH také prof. V. Šimánek. Vlastní konference pokračovala další dny jednáním v 5 sekcích. Počtem přednášek a plakátových sdělení byla největší sekcí analytická chemie, jejíž

součástí byla 1. Česko-Maďarsko-Polsko-Slovenská termoanalytická konference. Dalšími sekcemi byla sekce spektrálních metod, organické a farmaceutické chemie, historie chemie a chemické výroby a varia. Sborník sjezdu je k dispozici na sekretariátu ČSCH, Novotného lávka 5.

Informačně cenný je seznam přihlášených s adresami jejich pracovišť včetně elektronické adresy.

Účast zástupců ČSCH byla podpořena projektem MŠMT INGO LA 277.

Jitka Ulrichová

Zprávy

Nové služby elektronického vydání Chemických listů

Jak vyplývá ze statistik návštěvnosti webových stránek Chemických listů, plní tyto v poslední době především funkci portálu pro přístup k elektronickému vydání časopisu. V nedávné době došlo ke dvěma změnám, které ačkoliv nemusí být na první pohled patrné, podstatně rozšiřují nabízené služby v této oblasti.

První změnou, kterou jistě ocení širší paleta čtenářů, byla změna služby používané pro indexaci a prohledávání stránek z v poslední době již nevyhovujících „Atomz.com“ na „Google Custom Search“. Pro návštěvníka pokoušejícího se o plnotextové vyhledávání na webu Chemických listů to neznamená žádný rozdíl v tom, jak bude dotaz zadávat, bude však jistě velmi mile překvapen, že se ve výsledcích objeví skutečně relevantní dokumenty, a to včetně dokumentů PDF, které dříve nebyly vůbec indexovány. To v praxi znamená, že je možné prohledávat obsah všech plných textů článků uveřejněných v Chemických listech od roku 2000 (plné texty článků starších ročníků jsou skenované a neumožňují indexaci).

Druhou novinkou je zavedení tzv. RSS (Really Simple Syndication) zdroje. Uživatelé se mohou k tomuto zdroji přihlásit prostřednictvím zvláštního programu – tzv. RSS čtečky, která potom uživatele informuje vždy, když na webu zdroje dojde k nějaké změně, bez toho, aby uživatel musel tento web periodicky navštěvovat. RSS zdroj Chemických listů zahrnuje především upozornění na vyjití nového čísla. Odkaz pro přihlášení ke zdroji lze nalézt na stránkách vlevo dole v sekci „Různé“, moderní prohlížeče jej však nabídnou jako typickou oranžovou ikonku ve svém adresním řádku. Více informací o RSS technologii a čtečkách lze nalézt např. na URL <http://cs.wikipedia.org/wiki/RSS>.

Petr Zámostný

Ivan Sedlák oceněn cenou Zlatý Ámos

„Studente, až půjdeš někam s dívkou, tak nenápadně zaveď hovor na téma odparka a užij odborné terminologie. Jistě ji oslníš.“

*Ing. Ivan Sedlák, *1926*

Datum jeho narození vypovídá o tom, že zažil několik politických režimů a také všechny naše prezidenty; odbor-



nost chemika zase o tom, že byl svědkem i účastníkem bouřlivého vývoje svého oboru, jenž se za posledních padesát let výrazně proměnil. Polovinu svého života prožil jako učitel odborných předmětů na Střední průmyslové škole chemické (dnes MŠSCH) v Praze. Tak dlouhá doba svědčí nejen o neutuchajícím entuziasmu a zápalu pro pedagogickou činnost, ale také o velkém nadhledu, pochopení pro studenty a porozumění pro jejich názory.

Dá se říci, že značná část posledních čtyř generací chemiků v našem státě se s I. Sedlákem setkala. Mnohé z nich učil na střední škole – jeho žáci dnes pracují nejen jako odborníci v chemických provozech či jako učitelé na domovské škole (včetně jejího ředitele), ale působí i na VŠCHT nebo ve výzkumných ústavech. Ti, kteří se s ním nepotkali tváří v tvář, jistě znají odborné učebnice, na jejichž vzniku se autorsky podílel – na té poslední před dvěma lety.

Na výraznou a charismatickou osobnost I. Sedláka bývalí studenti jistě nezapomněli, vždyť ho ve škole při různých příležitostech navštěvují. O tom, že není nemožné – byť nesmírně těžké – být současně učitelem náročným i uznávaným a oblíbeným i mezi současnými studenty, svědčí jednoznačně to, že právě oni ho přihlásili do ankety Zlatý Ámos. Z nominačního dopisu, jehož autorem je

O. Soukup, se například dozvíme, že „na první pohled postarší pán je i přes svůj požehnaný věk neustále plný elánu. Potkáte-li profesora Sedláka na chodbě, na rozdíl od některých kantorů, kteří na pozdrav odpoví neurčitým zamručením nebo neodpoví vůbec, se jeho tvář rozzáří, objeví se úsměv takřka od ucha k uchu a veselým tónem vám odpoví. Jakékoli setkání s ním vás naplní optimismem.

Vždy je pečlivě upravený. Totéž vyžaduje i od nás. Například pro neurovaný límeček u laboratorního pláště nechává studenty klidně i přerušit práci. Jeho vystupování je jisté, vždy je ochotný kdykoli pomoci a své bohaté zkušenosti rozdává plnými hrstmi. ... je velmi oblíbený jak mezi studenty, tak mezi profesory. Jeho teoretické znalosti i zručnost v laboratořích jdou mnohým příkladem. A kdyby byl skutečně člověk tak starý, jak se cítí, tak bych řekl, že profesor Sedlák by byl tak v Kristových letech.“

Snaha zprostředkovat studentům učivo co nejkompaktněji v souvislosti obecnými přírodními zákonitostmi jsou důvodem vysokých nároků na žáky, jež někteří jen obtížně vstřebávají. Jistě však oceňují jak hluboké znalosti v oboru, tak schopnost bezprostředně reagovat na nečekané situace a komentovat je originálními postřehy. Mnohé z jeho výroků se staly přímo okřídlenými rčeními mezi chemiky a stojí za krátké připomenutí: „Jsme tu (ve škole) jako v reaktoru. Vy tady reagujete, ale někdo ne. A tak tady zůstane o rok déle, aby doreagoval.“ – „Řízená absence: student, jenž ví, že bude zkoušen, chybí.“

Správné dávkování všech přísad, reagensů a katalyzátorů, jako je trpělivost, nadhled, pochopení, humor, odborné znalosti, důslednost a zkušenost, způsobilo ojedinělou reakci, jejímž výsledkem je unikátní sloučenina vysoké odborné úrovně a oblíbenosti mezi žáky: tedy udělení dvou zdánlivě protichůdných cen jedné osobě. Ing. Ivan Sedlák získal cenu Zlatý Ámos 2007 udělovanou odbornou porotou a cenu Zlatý Ámos Sympaťák. Laureát tento titul získá podle počtu zasláných SMS zpráv – a těch bylo více než 4000.

A nesmíme zapomenout na jednu z nejdůležitějších přísad – skromnost. Nejlepším dokladem je bezprostřední reakce I. Sedláka na ocenění: „Nemyslím, že bych si to zasloužil. Ostatní učitelé byli mnohem lepší než já. Z vítězství mám ale moc velkou radost.“

Jana Koptišová



Na internetu vznikla unikátní databanka zpráv o přírodních vědách



Na jednom místě mohou zájemci najít zprávy o přírodních vědách. Ojedinělé internetové středisko spustil v uplynulých dnech tým projektu Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci Medializace vědy (MedVěd). Do aktivity se doposud zapojila většina českých vysokých škol, na kterých lze studovat exaktní obory.

Speciální webová stránka nazvaná Tiskové středisko vědy je dostupná na adrese www.projektmedved.eu/stredisko. Cílem je poskytnout odborné i laické veřejnosti komplexní soubor zpráv z vědeckého prostředí. Kromě devatenácti vysokých škol jsme oslovili také čtyřicet výzkumných ústavů a navazování kontaktů bude pokračovat i nadále. Většina z oslovených institucí spolupráci přivítala a pravidelně zaslá do systému zprávy a výstupy z výzkumů. Středisko je primárně určeno vědcům a novinářům. Na stránkách budou moci výzkumníci prezentovat vlastní úspěchy, prostor je ale např. i pro pozvánky na zajímavé akce a setkání s odborníky. Aktivita by měla zlepšit možnosti, jak prezentovat vědu v médiích. Doufáme, že se středisko stane hojně navštěvovanou stránkou, ze které novináři začnou čerpat informace pro další zpracování.

Všechny zprávy, které budou administrátoři přijímat na adrese veda@projektmedved.eu, se nejpozději do dvou dnů objeví v systému. Návštěvník střediska bude moci číst zprávy od nejnovějších po nejstarší, vyhledávat je podle jednotlivých slov v textu nebo najít potřebné materiály podle kategorie (např. Věda v praxi, Ocenění), oboru (např. Matematika a informatika, Fyzika, Chemie, Biologie a ekologie) nebo regionu (14 krajů ČR). Cílem je snadná orientace ve velkém množství informací. Nabídneme i kontakt na autora zprávy, povětšinou na tiskového mluvčí příslušné instituce.

Cílem projektu MedVěd je zpopularizovat chemii, fyziku a matematiku nejen mezi školáky, ale i u široké veřejnosti. Naplánované aktivity, mezi něž patří např. rozhovory s předními českými vědci či Univerzita dětského věku, by měly do konce roku 2008 ukázat, že přírodovědné obory znamenají dobrou šanci pro uplatnění v praxi, jsou zajímavé a neprávem stojí stranou pozornosti. Projekt by měl podle vedoucího projektového týmu a děkana Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci Juraje Ševčíka napomoci k překonání komunikační bariéry mezi vědeckými a výzkumnými pracovišti na jedné straně a médií na straně druhé. Problematikou se v nás zamýšlené šíří dosud nikdo v České republice nezabýval. Současná situace stavu studentů přírodovědeckých fakult a jejich následného přechodu do oblasti vědy a výzkumu a související pedagogické činnosti je poznamenána déletrvajícím úbytkem zájemců o tyto oblasti. Studenti středních škol při rozhodování o svém vysokoškolském studiu často dávají přednost ekonomickým či humanitním směrům, neboť tyto mají buď jednoznačné perspektivy z hlediska uplatnění na pracovním trhu a finančního ocenění, anebo jim je dáván široký a pozitivní prostor v médiích. To zvyšuje jejich důvěryhodnost a reputaci v povědomí veřejnosti a činí je pro mladé lidi velmi atraktivní. Tento stav je způsoben směřováním společnosti v posledních 15 letech, jejím odklonem od exaktních disciplín a orientací na výše zmíněné oblasti. Dalším problémem je odchod absolventů přírodovědeckých fakult do oborů, které s jejich předchozím studiem souvisejí málo nebo vůbec, a tím i následné znehodnocení jejich dosažené kvalifikace. Projekt MedVěd řeší danou problematiku na třech úrovních. Úroveň interaktivní

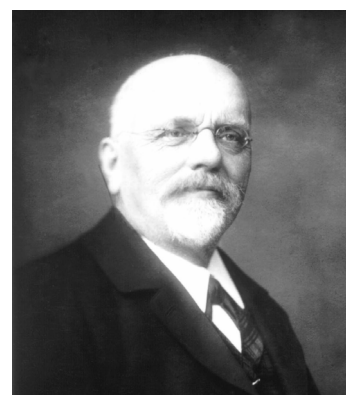
zahrnuje účast výše uvedených cílových skupin na akcích prezentujících vědecké obory a výzkum v rámci různých podmínek, přístupů, pohledů a organizačního prostředí. Úroveň výzkumná pak zahrnuje sociologické průzkumy, jejich analýzy, diskuse o možných řešeních a opatřeních, specializované semináře a následné prezentování výsled-

ků. Úroveň mediální zahrnuje počáteční a závěrečný monitoring tisku, mediální prezentaci všech aktivit zastřešených projektem, aktivní zapojení médií do projektu a související mediální servis.

Mgr. Miroslav Grass
tiskový mluvčí projektu Medializace vědy
grass@projektmedved.eu

Střípky a klípky o světových chemících

Mnoho kulatých „šestkových“ výročí, aneb dvorní rada prof. Karel Preis a Chemické listy



V letošním roce uplynulo přesně 130 let od chvíle, kdy začala vycházet první čísla prvního ročníku přímého předchůdce našeho časopisu, totiž Listů chemických. To je samozřejmě důvod k oslavě nebo alespoň k napsání článku. Nicméně největší kumulace kulatých výročí s našim časopisem spojených nastala již vloni, což bohužel prošlo bez velkého zájmu. Pokusím se tedy věc s malým zpožděním napravit a připomenout tu magickou šestku v letopočtech.

Především: v roce 1846, tedy před 161 lety, se narodil Karel Preis, budoucí profesor pražské techniky, jeden z koryfejí nově se ustavující české chemické vědy a zakladatel Listů chemických. Před 131 lety, v době kdy mu bylo pouhých 30 let, vydal v září první číslo tohoto časopisu vůbec, tehdy ovšem evidované jako jakýsi „nultý“ ročník, z čehož plyne ona datovací nejednoznačnost.

Další důležitou „šestkou“ v našem přehledu je rok 1906, kdy došlo k přejmenování Listů chemických, a to pouhou přesmyčkou na Chemické listy.

Důležitý šestkový datum je také rok 1916, kdy Karel Preis, již jako vážený profesor a nositel řady titulů a vyznamenání z nejvyšších míst mocnářství, zemřel – ve svých sedmdesáti letech.

Šestkovou řadu uzavřeme rokem 1946, kdy – po krát-

ké pauze (1944–1945) vynucené okupací – bylo obnoveno vydávání našeho časopisu.

Založení a počáteční existence tohoto základního pojítka české chemické komunity je tedy neoddelitelně spojena se jménem prof. Preise. Bylo by proto možná užitečné zde připomenout, k jakým objevům a událostem ve vědě a technice za jeho života došlo u nás i ve světě. Každá z následujících, víceméně náhodně vybraných položek by si zasloužila podrobnějšího rozvedení, zde ale jde pouze o orientaci v čase:

V roce jeho narození byl objeven „nitroglycerin“ (správněji glycerintrinitrát). O čtyři roky později, na popud J. J. Berzelia, se teprve začaly všeobecně používat písmenové symboly prvků. Rokem 1855 je datován objev prvních syntetických anilinových barev (William Perkin). V roce 1858 byl J. W. Hyattem připraven první syntetický plast – celuloid. O rok později G. R. Kirchhoff a R. W. Bunsen popsali první atomová spektra některých prvků. Roku 1860 byla vydána první česká vysokoškolská učebnice chemie a čtyři roky poté započala souběžná výuka chemie v češtině a němčině na Pražské polytechnice. V roce 1866 stál K. Preis jako jeden ze zakladatelů u vzniku Spolku českých chemiků (v pouhých 20 letech!). Chemie se dva roky nato začala vyučovat i na Karlo-

Ferdinandově univerzitě v Praze a ještě o rok později byla Pražská polytechnika rozdělena na českou a německou část. Téhož roku publikoval D. I. Mendělejev svůj periodický zákon. V roce, kdy vyšlo první číslo nultého ročníku Listů chemických, tj. 1876, byl patentován vynález telefonu (A. G. Bell) a vynález čtyřtákního motoru (A. Otto), o tři roky později T. A. Edison patentoval žárovku. Založení České akademie věd a umění nese datum 1890. O sedm let později J. J. Thompson publikoval svůj objev elektronu, roku 1902 L. Boltzmann zavedl do termodynamiky pojem entropie a roku 1904 byla udělena první Nobelova cena za fyzikální chemii (J. H. van't Hoffovi za práce v oboru chemických rovnováh). V roce 1905 byla objevena chromatografie, s rokem 1907 je spojeno založení Chemical Abstracts, o tři roky později J. N. Brønsted a G. N. Lewis publikovali teorii kyselin a zásad. Prof. Preis se ještě dožil zveřejnění Bohrova modelu atomu vodíku (1913).

Co vlastně měli v době K. Preise chemici k dispozici? Ve srovnání s dneškem toho mnoho nebylo. Byla zde nepochybně kvalitativní anorganická sirovodíková analýza, určitá primitivní forma elementární (spalovací) organické analýzy, odměrná a vážková kvantitativní analýza, z přístrojů bodotávek, polarimetr, kalorimetr a řada dalších, dnes už pravděpodobně neužívaných zařízení. Skleněné nádoby si chemici z velké části museli sami vyfukovat, místo zábrusů sloužily zátky, místo elektřiny plynové hořáky, ke koupi bylo minimum komerčních chemikálií. Je až neuvěřitelné, co všechno s tím naši předchůdci dokázali!

Zásluhy prof. Preise lze rozdělit na publikačně-organizační a pedagogické. Mezi ty první patří např. již zmíněná skutečnost, že byl (jako teprve dvacetiletý student!) jedním ze zakladatelů Spolku českých chemiků (1866). Velmi brzy pochopil, že česká chemická komunita, tedy mladá česká chemická věda a chemický průmysl, se neobejde bez specializovaných periodik, a to nejen kvůli potřebě publikační, ale i pro prostou komunikaci, jako stmelující prvek. Byl zakladatelem „Časopisu pro průmysl cukerní, orgánu Spolku pro povznesení cukrovarnického průmyslu v království Českém“ (1872); časopis sice zanikl r. 1875, ale prof. Preis se k projektu vrátil a r. 1882 založil a vlastním nákladem vydával Listy cukrovarnické, které vycházejí dodnes. Mezitím ale, jak je již uvedeno, založil r. 1876 Listy chemické. Cukrovarnictví pokládal – právem – za natolik důležitý obor, že založil Výzkumnou stanici cukrovarnickou a Cukrovarské museum; cukrovarnictví totiž, spolu s pivovarnictvím, představovalo v tehdejší době ještě významnější odvětví než dnes.

Pokud se týče zásluh pedagogických, je nutno na prvním místě uvést, že vychoval řadu prvotřídních chemiků, mezi jinými např. E. Votočka. Vydal řadu učebnic, kromě jiného třídílnou příručku „Navedení k chemickým rozborům“ („Kvalitativní analýza anorganická“, „Kvantitativní analýza odměrná“, Vážková analýza anorganická“), dále vysokoškolskou učebnici „Anorganická chemie“ (1902, spolu s E. Votočkem) a řadu dalších děl.

Jeho celoživotní úsilí bylo odměněno i formálně: 1882 byl jmenován mimořádným a 1893 řádným členem Královské české společnosti nauk, dále obdržel titul Čest-

ný doktor věd technických, z nejvyšších míst monarchie pak Řád železné koruny III. třídy a nakonec, v r. 1906, i prestižní titul Dvorní rada.

Je dobré si uvědomit, jak dlouhou a úctyhodnou tradici náš časopis má, a za co všechno vdčíme jeho zakladateli. I když se od doby jeho působení chemie zinternacionalizovala („zglobalizovala“), většina evropských národů si ponechala chemické časopisy v národních jazycích – a to jistě nejen ze sentimentu. Pokračujme tedy v této tradici, a rozvíjejme ji.

Jiří Podešva

Archeokrystalochemie. Vykopávka druhá. Případ pravoúhlého kosočtverce

Již první vykopávka¹ ukázala nálezy z doby předcházející a z vědy příbuzné. I když založení archeomineralogie je právem odborníků, lze jistě i v archeokrystalochemii zajít pro bližší pochopení interakce rentgenového záření s krystalem do oblasti záření viditelného a zabývat se výsledky takto získanými.

Mineralogie je nesporně nejstarší přírodní vědou. Ve dvanáctém verši druhé kapitoly první knihy Mojžíšovy Genesis je zmíněno zlato a kámen karneol². V bibli Lutetrov³ z roku 1522, nejméně ovlivněné církevními autoritami, je na stejném místě uveden „Edelstein Onyx“. Zlato bylo známo Egyptanům dávno před stvořením světa a považováno za kov.

Za vrchol strukturních představ, formulovaných na konci vývoje mineralogie počátkem 19. století našeho letopočtu, je možno považovat soubor krystalografických soustav, který se stal znakem vzdělanosti od středních škol až po badatelny. Tak daleko byl už Walter Friedrich¹, když umístil do cesty paprsku krystal modré skalice (chalkantitu).

A tak mohla být představa malých cihliček (Haüy) jako soustava opakujících se bodů podrobena geometrii obměňovaných souřadných posunů (Bravais). U třinácti takto navržených buněk vznikly tak podmínky pro difrakci rtg-záření na krystalové mřížce, znalost geometrie základního rovnoběžnostěnu, jak ji představují délky stran a velikosti úhlů, které svírají. Čtrnáctá Bravaisova buňka, klenková, byla sice teoreticky zcela na místě, potíže, jimiž komplikovala praktické použití, ji v současnosti odsouvají na pokraj zájmu.

Když byla prozkoumána bodová souměrnost těchto základních buněk (Schönfliess), vzniklo 32 bodových grup, nerovnoměrného zastoupení – od jedínych (C_1 , C_2 , a C_3), až po 28-četnou D_{2h} . Doplnění bodových grup posuny (translacemi) vytvořilo 230 jediné možných prostorových uspořádání bodů v prostoru – prostorových grup souměrnosti. Je zlovykem v literatuře velice rozšířeným připisovat krystalografickým soustavám nějakou souměrnost, mají geometrii a jsou trojklonné (anortické), jedno-klonné (monoklinické), kosočtverečné (ortorombické), čtverečné (tetragonální), šesterečné (hexagonální) a krych-

lové (kubické).

Jako úlitba Bravaisovi byla zvláště řazena skupina sedmi klencových (romboedrických). Zavedení termínu anortické místo triklinické⁴ bylo výhodné pro dvojznačnost písmene T.

Vzhledem k tomu, že nesporně nezákladnější vlastností krystalové struktury je její souměrnost, je nejspolehlivější definicí krystalové soustavy množina prostorových grup, jež ji tvoří. Tedy anortické (A) jsou grupy 1 a 2, jednoklonné (M) 3 až 15, kosočtverečné (O) 16 až 74, čtverečné (T) 75 až 142, klencové a šesterečné (H) 143 až 194, krychlové (C) 195 až 230. Z hlediska didaktického je taková definice nepoužitelná. Zvláštní problém představuje soustava klencová. Jejich 25 grup tvoří dvě skupiny – grupy 143 až 161 (s výjimkou 148) představují souměrnost trigonální, 148 a posledních šest je možno na trigonální převést změnou os. Výpočetní technika použitá v databázích už jako neklencové představuje až 95 % klencových grup. S tím souvisejí i problémy názvoslovné.

V jinak lahodné češtině používané mineralogy působil rozpaky název „kosočtverečná“ pro soustavu charakterizovanou třemi pravými úhly. U vědomí, že název byl odvozen na krystalových tvarech a ne na geometrii elementární buňky, doporučoval se na vysokoškolské úrovni název „orthorombická“, ovlivněný jednak módní anglosaskou terminologií, jednak neznalostí latiny – která kmenem „rhombus“ rozumí kosočtverec, předponou „ortho“ pravý. Tuto zřejmou nesmyslnost by bylo možno odstranit termínem „orthogonální“. V češtině je pro pravoúhlý hranol se třemi hranami nestejně délky odborný název „kvádr“⁵. Použil jej v souvislosti nerostné již Jan Neruda⁶ v posledních verších své písně kosmické č. XXVI pro křemen, který ale není orthogonální. Kmen „edr“ značící „stěnu“ spojuje stereochemie s číslovkami: tetraedr, oktaedr, dodekaedr, ikosaedr, i hexaedr v případě krychle. Protože krychle je také klencec, nebyl by problém užívat tento název i u úhlů různých od pravého. Zdá se, že romboedrum bude ale z důvodů výše zmíněných odzvoněno a že je nebudé nikdo oplakávat. Mezní případy klencových elementárních buněk jsou polytyp karbidu křemíku 393R s úhlem 32 minut a stranou 330 kX a jedna z forem ledu s úhlem 113°, jejíž buňka se placatostí blíží šestiúhelníku.

Charakterizovat krystalografické soustavy rozměry elementární buňky vede k omylům – jsou známy⁴ desítky struktur, které s parametry kubickými jsou monoklinické, nebo tetragonální. Zvláště klamná je představa, že by struktura jednoklonná nemohla být souměrnější než krychlová. Prostorovou grupu č. 198 – P₂13, chudinku s dvěma osami, předstihnou souměrností 3 grupy jednoklonné, 58 grup ortogonálních (!), 66 grup čtverečných a mnohé další. Je možno ukázat, že nejvyšší bodová souměrnost prostorové grupy předchozí soustavy je vyšší než nejnižší souměrnost bodové grupy soustavy následující ve všech případech.

Závěrem této vykopávky a zhodnocením náleží je slušné mineralogii poděkovat za dědictví, i když někdy jen spíše pozůstalost.

Lubor Jenšovský

LITERATURA

1. Jenšovský L.: Chem. Listy 101, 351 (2007).
2. Bible, Ekumenická rada církví, Praha 1989.
3. Luther M.: *Die Heilige Schrift*. Biblia, Stuttgart 1930.
4. Donnay J. D. H., Ondik(ová) H. M.: *Crystal Data*, 3. vyd. NBS, Washington 1979.
5. Bartsch H.-J.: *Matematické vzorce*. SNTL, Praha 1963.
6. Neruda J., ve sbírce: *Básnické spisy II*. str. 29. F. To- pič, Praha 1921.

Vzpomínka na brněnského fyzikálního chemika univ. prof. Dr. Antonína Šimka

Od samého počátku německé okupace naší republiky v roce 1939 docházelo k zatýkání českých vlastenců, především z řad inteligence, která – přes všechny pozdější legendy o pronásledovaných dělnících a komunistech – utrpěla nejkrutější ztráty. Vždyť jen z akademické obce pražské Karlovy univerzity bylo popraveno nebo utýráno 23 vysokoškolských učitelů (připomeňme např. fyzika F. Závišku, mineralogy F. Ulrycha a R. Nováčka, biologa V. Bergauera, farmakologa E. Starkensteina, lékaře J. Levita a L. Taussiga) a dalších 28 profesorů a docentů bylo uvězněno. Okupanti však zakročili podobně tvrdě proti jakémukoliv projevu rezistence i na mnoha dalších místech.

V letošním roce vzpomeneme 120 let od narození (26.3.1887) a 65 let od úmrtí (7.5.1942) Dr. Antonína Šimka, statečného vlastence, anorganického a fyzikálního chemika, profesora na Masarykově univerzitě v Brně, kde od základů vybudoval Ústav fyzikální chemie.

Tento rodák z Nových Hamrů (okr. Chrudim) byl žákem pražské univerzity, ihned po studiích však odešel zprvu do Jeny, později (s přerušením první světovou válkou) jako asistent na univerzitu v nizozemském Groningenu. V roce 1920 byl jmenován prvním profesorem fyzikální chemie na nově založené brněnské univerzitě, kde působil až do uzavření českých vysokých škol v roce 1939. Posléze byl zatčen a ve věku 55 let popraven v koncentračním táboře v Mauthausenu.

Vědecky pracoval v oblasti chemie poměrně vzácného prvku telluru (mj. určil jeho teplotu tání 449 °C) a ternárních soustav, ale především se zabýval rentgenovou strukturální analýzou. Pro svůj ústav opatřil rentgenoskopické zařízení, na němž provedl řadu výzkumů krystalických látek. S touto experimentální technikou se Šimek seznámil při své studijní návštěvě profesora fyziky na univerzitě v Manchesteru sira W. L. Bragga, který společně se svým otcem W. H. Braggem získal v roce 1915 Nobelovu cenu právě za studium struktury krystalů pomocí rentgenových paprsků. Vedle nadání pro přírodní vědy měl také profesor Šimek zájmy filologické. Překládal hojně z angličtiny a holandštiny, např. knihu A. S. Russella „Úvod do chemie radioaktivních látek“ aj.

Bohumil Tesařík

Před sto lety se narodil průkopník chemoterapie Daniel Bovet

Ve třetím a čtvrtém desetiletí minulého století se objevy v oblasti fyziologie a medicíny nesly vesměs v biochemickém duchu a léčby chorob chemickými látkami – chemoterapií (dnes obvykle v užším smyslu používaném výrazu pro léčení nádorů cytostatiky). K jejímu rozvoji významně přispěl italský farmakolog švýcarského původu Daniel Bovet, od jehož narození letos uplynulo sto let. Za objevy syntetických sloučenin, které působí na určité tělesné orgány, zejména na cévní soustavu a kosterní svalstvo, obdržel prestižní Nobelovu cenu.

Narodil se 27. března 1907 v Neuchâtelu (Švýcarsko) v rodině profesora pedagogiky na univerzitě v Ženevě. Na této škole ukončil v roce 1927 studia medicíny, poté krátce působil jako asistent fyziologie na univerzitě ve Florencii, v roce 1929 obhájil v Ženevě doktorát ze zoologie a srovnávací anatomie a odešel do Pasteurova ústavu v Paříži, kde se stal asistentem profesora É. Rouxe a od roku 1936 šéfem laboratoře terapeutické chemie. V roce 1947 přijal pozvání ředitele zdravotního ústavu v Římě profesora D. Marotty, aby tam vybudoval obdobnou laboratoř. Stal se italským občanem (v roce 1957 získal pro svou novou vlast po více než půl století tehdy druhou Nobelovu cenu za fyziologii a lékařství), v roce 1964 byl jmenován profesorem farmakologie na univerzitě v sardinském Sassari a v roce 1971 profesorem psychobiologie na římské univerzitě, kde působil do roku 1982. Zemřel v Římě 8. dubna 1992.

Při svých chemoterapeutických výzkumech profesor Bovet úzce spolupracoval především s manželkou, sestrou významného bakteriologa F. Nittho. Sledovali práci objevitele sulfonamidu prontosilu německého profesora medicíny v Münsteru a ředitele laboratoře experimentální patologie a bakteriologie koncernu I. G. Farbenindustrie G. Domagka (NC pro rok 1939) a prokázali, že sulfonamidová skupina má antibakteriální účinky pouze v živých tkáních, kde se v průběhu metabolických reakcí mění na sulfanilamid, jenž je vlastní účinnou látkou. Červené azobarvivo *Prontosil rubrum* bylo patentově chráněné a léky z něj byly drahé, kdežto sulfanilamid (*Prontosil album*) je bezbarvý, lze jej lacině vyrábět a má stejné baktericidní účinky. Objev Bovetových (vedle týmu francouzských výzkumníků, soustředěných kolem chemika J. Tréfouëla) tak umožnil zahájit – různými variacemi molekulárních spojů – průmyslovou výrobu analogických léčiv, široce užívaných proti streptokokovým infekcím, jako je zápal plic, meningitida a spála.

Dlouhé výzkumy vedly Boveta k tomu, že rozvinul dřívější myšlenky zakladatele moderní chemoterapie německého imunologa P. Ehrlicha (NC 1908) a zakladatele lékařské chemie německého organického chemika E. H. Fischera (NC 1902) do hypotézy, která se stala jedním ze základních pilířů vývoje moderních syntetických léků. Vychází z toho, že chemická sloučenina, jejíž vlastnosti a prostorový tvar se podobají látce produkované tělem, může narušit její funkci. Jako se zámek otevře jediným

tvarem klíče, tak se metabolická reakce spouští jednou chemickou látkou. Podobná látka sice pronikne do „zámku“, ale neotevře jej a zablokuje nežádoucí reakci. Bovet (ve spolupráci se švýcarskou biochemičkou Annou-Marií Staubovou) tak vyvinul v roce 1937 antihistamin 933F (antihistaminika – látky blokující účinek histaminu, který hraje významnou roli v rozvoji alergie, ale i léčbě peptidických vředů), na jehož základě vznikla řada léků účinných proti astmatu a některým alergickým nemocem (senné rýmě, kopřivce aj.).

Po studijní cestě do Brazílie se začal zajímat o jihoamerický šípový jed kurare z povodí řeky Amazonky, připravovaný Indiány louhováním kůry některých rostlin (zejména rodu kulčiba) a obsahující různé prudece jedovaté alkaloidy strychninového typu. Kurare blokuje přenos podnětu z nervu na sval, a tak ochromuje činnost kosterních svalů. Nejzávažnější je obma dýchacích svalů, která vede v důsledku zástavy dechu k rychlé smrti. Protože chemická struktura šípového jedu již byla známa, Bovet v roce 1946 začal vyvíjet analogickou látku succinylcholin, která se používá jako svalový relaxans (relaxace – uvolnění) při chirurgických operacích. Na sklonku svého plodného života se vědec, proslulý svojí jedinečnou schopností týmové práce, věnoval výzkumu uklidňujících prostředků a anestetik.

Bohumil Tesařík

Emil Erlenmeyer

Emil Erlenmeyer se narodil 28. 6. 1825 ve Wehenu u Wiesbadenu v rodině evangelického duchovního. Emil vyrůstal vedle tří bratrů a čtyř sester. Po maturitě na gymnáziu ve Weilbachu začal roku 1845 studovat medicínu v Giessenu. Zde ho velmi zaujaly chemické přednášky profesora Justuse Liebiga, přesto po roce přestoupil na univerzitu v Heidelbergu. Ani zde nebyl spokojen, a proto se vrátil do Giessenu a pracoval jako asistent Heinricha Willa ve filiální Liebigově laboratoři. Aby mohl finančně podporovat sourozence, složil státní zkoušku z farmacie a zakoupil lékárnou. Jelikož ale lékárna neprosplávala, prodal ji a vrátil se na univerzitu v Giessenu, kde pod vedením Liebiga odpromoval. Po sňatku s Augustou Hengstenbergovou, dcerou lékárníka ve Wiesbadenu, se Erlenmeyer vrátil k farmacii. Při tom vyučoval chemii na místní obchodní a průmyslové škole. Jeho pokus rozšířit lékárnou na malý chemický podnik se nezdařil, lékárnou prodal a rodina se přestěhovala do Heidelbergu. Zde v kůlně zařídil laboratoř a prováděl analýzy pro různé podniky. Přitom navštěvoval univerzitní přednášky profesora Augusta Kekulého. Po habilitaci se roku 1857 stal docentem a po odchodu Kekulého na univerzitu v Gentu převzal po něm Erlenmeyer přednášky a vedení organické laboratoře. Roku 1868 přestoupil na polytechniku v Mnichově a v Tutzingu u jezera Starnberger See, jižně od Mnichova, postavil vilu. Po šesti letech profesorské místo ze zdravotních důvodů opustil. Ve Frankfurtu nad Mohanem si zřídil laboratoř a působil jako vědecký poradce u firmy svého žáka Belli-

ho. Erlenmeyer zemřel 22. 1. 1909 v Aschaffenburgu u Frankfurtu a byl zpopelněn.

S Erlenmeyerovým jménem si všichni spojujeme elegantní kónickou baňku, rovněž je autorem azbestové síťky. Z mnoha Erlenmeyerových prací z organické chemie připomeňme jen některé: autor vyjasnil otázku kyseliny „valerové“ z oddenku kozlíku lékařského. Dokázal, že jde o kyselinu isovalerovou, kterou připravil jednak oxidací isoamylalkoholu, jednak z isobutylalkoholu přes nitril a jeho hydrolyzou. Dále studoval Streckerovu syntézu α -aminokyselin a nezávisle na Adolphu Baeyerovi syntetizoval indigo, připravil guanidin a dokázal jeho strukturu. Je autorem pojmu dvojná a trojná vazby, navrhl strukturu naftalenu. Od roku 1871 Erlenmeyer zastával funkci redaktora Liebigs Annalen der Chemie, ale některými autory byl neoblíben a ti pak raději publikovali v Berichten. Aby zvýšil oblibu svého časopisu, přibral do redakce A. Kekulého a A.W. Hofmanna, s tím se ale záhy rozloučil.

Erlenmeyer byl člověkem velmi sebevědomým. Roku 1895 chtěl uveřejnit v Annalen sám sobě práci s podtitulem „Festschrift zu seinem 70. Geburtstag sich selbst gewidmet vom Verfasser“. Naštěstí spoluredaktor Volhard ho od otištění podtitulku odradil. Erlenmeyer byl muzikální, rád kouřil havana, hrál whist a kulečnick, cestoval a byl výborným společníkem. Roku 1905 obdržel Erlenmeyer čestné doktoráty univerzity v Heidelbergu a techniky v Mnichově.

Syn **Emil Erlenmeyer** (1864–1921), narozen v Heidelbergu, ukončil univerzitní studia v Göttingenu, habilitoval v Bonnu, pracoval na univerzitě ve Strassburgu a posléze v Císařském biologickém ústavu v Berlíně-Dahlemu. Stejně jako otec, byl i syn činným v organické chemii. V učebnicích bývá jeho jméno citováno se syntézou 2-amino-3-arylpropanových kyselin přes tzv. azlaktony. Erlenmeyer Jr. zemřel poměrně mlád na infarkt.

LITERATURA

1. Conrad M.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. 43, 3645 (1910).
2. Krätz O.: Chem. uns. Zeit. 6, 52 (1972).
3. Lepsius B.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. 54A, 107 (1921).
4. Schwarz H.D.: Dtsch. Apoth. Ztg. 115, 1074 (1975).
5. Witt O.N.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. 42, 331 (1909).

Miloslav Ferles a Eva Mašková

Objev, který nikdo předem neplánoval: tekuté krystaly pro displeje

Vynálezy a objevy přicházejí na svět často klikatými cestíčkami. Někdy to vypadá, jako by na vynález čekala společnost tak netrpělivě, že se zrodil současně v několika hlavách v různých koutech světa, jindy je náhodou či omylem objeveno něco, s čím si v praktickém životě momentálně nikdo neví rady. Takhle předčasně přišel na svět nejen celuloid či penicilin, ale také kapalné krystaly, se kterými se v posledních desetiletích setkáváme doslova

na každém kroku. Uplatnění našly hlavně v displejích (LCD) digitálních měřicích a diagnostických přístrojů, zařízení pro zpracování dat, elektronických hodin, kapesních počítačů a dalších výrobků spotřební elektroniky.

Skutečnost, že k předem neplánovanému objevu „krystalů, co tečou“ došlo v Praze, patří k jedné z málo známých kapitol dějin technických věd a vynálezů v českých zemích. Protagonistou tohoto příběhu je chemik a biolog Friedrich Reinitzer, od jehož narození v rodině pražského německého železničního úředníka (1857) letos uplynulo 150 let.

Sešedesát let svého života, vyplněného usilovnou vědeckou a pedagogickou prací, rozdělil téměř stejným dílem mezi vysoké školy v Praze a Štýrském Hradci (Graz). Nejdříve vystudoval na německé polytechnice v Praze chemii a botaniku (1873–1877) a po absolutoriu zde působil pět let (1877–1882) jako asistent v chemicko-analytické laboratoři. Dalším krokem v jeho vysokoškolské kariéře bylo zaměstnání v univerzitním Ústavu fyziologie rostlin (1882–1888) a poté znovu na technice, kde byl roku 1888 jmenován mimořádným profesorem botaniky, zbožiznalství a technické mikroskopie. Z existenčních důvodů se však v roce 1895 rozhodl odejít na techniku do Štýrského Hradce, kde po několika letech získal pracně vyslouženou řádnou profesuru. V tomto starobylém univerzitním městě také před 80 lety v roce 1927 zemřel.

Kapalné krystaly se Reinitzerovi podařilo objevit v roce 1888, kdy jako docent německé univerzity zkoumal chemickou podstatu rostlinných barviv cholesterolového typu. Během ochlazování roztaveného cholesterolacetátu jej zaujal „zvláštní, velmi zajímavý jev“: „Při pozorování v odraženém světle je vidět na jednom místě vystupovat živou smaragdově zelenou barvu, která se čile rozšiřuje přes celou masu, poté se stává modrozelenou, místy až temně modrou, nato přechází v žlutozelenou, žlutou, oranžově červenou a nakonec v jasně červenou. Od nejnižších míst pak masa tuhne ve sférické krystaly, které se dosti hbitě šíří potlačující barevné jevy, přičemž barvy blednou. V procházejícím světle se jev odehrává v doplňkových barvách, které jsou však neobyčejně bledé, sotva vnímatelné.“ U jiného derivátu – cholesteryl-benzoátu – zjistil, že tato pozoruhodná chemická sloučenina kapalní již při 145 °C, ale teprve po dosažení teploty 179 °C se stává ryze čirou tekutinou. Uvnitř teplotního intervalu ohraničeného dvěma body tání (od 145 do 179 °C) se tato látka jeví jako mléčně zakalená. O svém objevu referoval Reinitzer na zasedání vídeňské Akademie věd 3. srpna 1888.

O další pokrok ve studiu kapalných krystalů se díky lepšímu přístrojovému vybavení zasloužil německý profesor fyziky na univerzitě v Aachen Otto Lehman (1855 až 1922). Většinu Reinitzerových závěrů potvrdil a zpřesnil ve svém prvním oficiálním sdělení o „kapalné krystalizaci“, datované 30.8.1889. Ani jemu se však tehdy nepodařilo podstatu pozorovaných jevů uspokojivě vysvětlit. Teprve v následujících desetiletích byla provedena klasifikace kapalných krystalů, objasněna jejich struktura a podrobně prozkoumáno, jaký vliv na ni mají elektrická a magne-

tická pole. Pak se po více než půl století zdálo, že objev kapalných krystalů nepřinese žádné možnosti jeho praktického využití. Teprve počátkem 60. let minulého století se o renezanci oboru zasloužil vojenský a kosmický výzkum.

V současné době známe anizotropních kapalin, jejichž fyzikální chování je závislé na směru, již mnoho tisíc. Jsou to organické sloučeniny s molekulami protáhlého, diskovitého nebo miskovitého tvaru, které se v určitém teplotním rozmezí nebo při určitém složení uspořádávají. Jestliže pravidelné uspořádání molekul kapalného krystalu změníme působením vnějšího elektrického nebo magnetického pole, změní látka i své optické charakteristiky. Podobají se kapalinám, protože jsou tekuté, a zaujímají tvar nádoby, v níž se nacházejí, jejich fyzikální vlastnosti (index lomu

světla apod.) jsou však závislé na směru jako u krystalů. Tento atribut pak např. umožňuje na displejích z kapalných krystalů vytvářet viditelné číslice, písmena aj.

Všem zájemcům o hlubší poznání úrodných let pro pěstování exaktních věd na pražských německých vysokých školách koncem 19. století, spjatých se jmény E. Macha, I. Puluje a F. Reinitzera (díky nim se tehdy stala Praha evropským městem fyziky, chemie a elektrotechniky), lze doporučit čtivou knihu prof. RNDr. Ivo Krause, DrSc., *Dějiny technických věd a vynálezů v českých zemích* (Academia, Praha 2004), kterou lze nalézt ještě dnes v regálech knihkupectví s „osvícenými“ majiteli.

Bohumil Tesařík

Akce v ČR a v zahraničí

rubriku kompiluje Lukáš Drašar, drasarl@centrum.cz

Rubrika nabyla takového rozsahu, že ji není možno publikovat v klasické tištěné podobě. Je k dispozici na webu na URL <http://www.konference.wz.cz/> a <http://www.csch.cz/akce9909.htm>. Pokud má některý čtenář

potíže s vyhledáváním na webu, může se o pomoc obrátit na sekretariát ČSCH. Tato rubrika nabyla již tak významného rozsahu, že ji po dohodě přebírají i některé zahraniční chemické společnosti.

Členská oznámení a služby

Docenti jmenovaní od 1.11.2006 do 21.5.2007

Doc. Ing. Radovan Bílek, CSc.
pro obor biochemie, VŠCHT Praha

Doc. RNDr. Petr Bouř, CSc.
pro obor analytická chemie, VŠCHT Praha

Doc. Ing. Eva Cudlínová, CSc.
pro obor aplikovaná a krajinná ekologie, JU Č. Budějovice/AV ČR

Doc. Ing. Eva Černošková, CSc.
pro obor chemie a technologie anorganických materiálů, Univerzita Pardubice

Doc. Ing. Pavel Dostálek, CSc.
pro obor biotechnologie, VŠCHT Praha

Doc. RNDr. Zdeněk Dvořák, Ph.D.
pro obor lékařská chemie a biochemie, UP Olomouc

Doc. RNDr. Zdeněk Fišar, CSc.
pro obor lékařská chemie a biochemie, UK Praha

Doc. Ing. Michal Hocek, DSc.
pro obor organická chemie, VŠCHT Praha/AV ČR

Doc. Ing. Dr. Milan Jahoda
pro obor chemické inženýrství, VŠCHT Praha

Doc. Ing. Roman Jambor, Ph.D.
pro obor anorganická chemie, Univerzita Pardubice

Doc. Ing. Ladislav Kokoška, Ph.D.
pro obor zemědělská chemie, ČZU Praha

Doc. Mgr. Marek Koutný, Ph.D.
pro obor technologie makromolekulárních látek, UTB Zlín

Doc. PharmDr. Ruta Masteiková, CSc.
pro obor farmaceutická technologie – galenická farmacie, VFU Brno

Doc. Ing. Zuzana Navrátilová, CSc.
pro obor analytická chemie, Univerzita Pardubice/OU Ostrava

Doc. RNDr. Karel Obrtlík, CSc.
pro obor materiálové vědy a inženýrství, VŠB-TU Ostrava/AV ČR

Doc. RNDr. Michal Otyepka, Ph.D.
pro obor fyzikální chemie, UP Olomouc

Doc. Mgr. Jan Preisler, Ph.D.
pro obor analytická chemie, MU Brno

Doc. RNDr. Danuše Procházková, DrSc.
pro obor bezpečnost průmyslu, větrání a požární ochrana,
VŠB-TU Ostrava

Doc. MUDr. David Stejskal, Ph.D.
pro obor lékařská chemie a biochemie, UP Olomouc/Nem.
Šternberk

Doc. Ing. Petr Svoboda, Ph.D.
pro obor technologie makromolekulárních látek, UTB Zlín

Doc. Ing. Petr Šimůnek, Ph.D.
pro obor organická chemie, Univerzita Pardubice

Doc. RNDr. Irena Valterová, CSc.
pro obor organická chemie, UK Praha

Doc. Ing. Jarmila Vilčáková, Ph.D.
pro obor technologie makromolekulárních látek, UTB Zlín

Doc. RNDr. Josef Vlasák, CSc.
pro obor molekulární a buněčná biologie a genetika, JU Č.
Budějovice/AV ČR

Akademie věd ČR udělila v chemických vědách titul doktor věd (DSc.):

Doc. RNDr. Ivan Fortelný, CSc., DSc.
pro obor makromolekulární chemie, ÚMCH AV ČR

Profesoři jmenovaní s účinností od 16. dubna 2007

Prof. RNDr. Karel Bezouška, CSc.
pro obor biochemie
na návrh Vědecké rady Univerzity Karlovy v Praze

Prof. Ing. Zdeněk Bělohav, CSc.
pro obor organická technologie
na návrh Vědecké rady Vysoké školy chemicko-
technologické v Praze

Prof. MUDr. Jiří Jonák, DrSc.
pro obor lékařská chemie a biochemie
na návrh Vědecké rady Univerzity Karlovy v Praze

Prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
pro obor technologie makromolekulárních látek
na návrh Vědecké rady Univerzity Pardubice

Prof. Mgr. Bořivoj Klejdus, Ph.D.
pro obor analytická chemie
na návrh Vědecké rady Univerzity Palackého v Olomouci

Prof. RNDr. Milan Pour, Ph.D.
pro obor organická chemie
na návrh Vědecké rady Univerzity Karlovy v Praze

Prof. Dr. Ing. David Sedmidubský
pro obor anorganická chemie
na návrh Vědecké rady Vysoké školy chemicko-
technologické v Praze

Prof. Ing. Martin Zatloukal, Ph.D.
pro obor technologie makromolekulárních látek
na návrh Vědecké rady Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně

Blahopřejeme

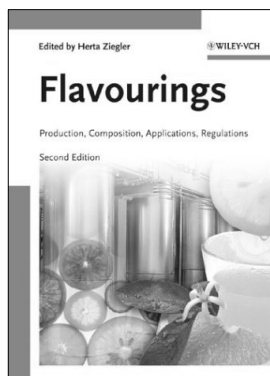
Zákony, které ovlivní život chemiků

- 112/2007 Sb.** Vyhláška, kterou se mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 26/2001 Sb., o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky, o náležitostech žádosti o neuvedení ingredience na obalu kosmetického prostředku a o požadavcích na vzdělání a praxi fyzické osoby odpovědné za výrobu kosmetického prostředku (vyhláška o kosmetických prostředcích), ve znění pozdějších předpisů
- 107/2007 Sb.** Zákon, kterým se mění zákon č. 311/2006 Sb., o pohonných hmotách a čerpacích stanicích pohonných hmot a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o pohonných hmotách), ve znění zákona č. 575/2006 Sb.
- 101/2007 Sb.** Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 113/2005

- Sb., o způsobu označování potravin a tabákových výrobků, ve znění pozdějších předpisů
- 91/2007 Sb.** Vyhláška, kterou se mění vyhláška Ministerstva zemědělství č. 274/1998 Sb., o skladování a způsobu používání hnojiv, ve znění pozdějších předpisů
- 88/2007 Sb.** Vyhláška, kterou se mění vyhláška Ministerstva zemědělství č. 141/1997 Sb., o technických požadavcích na výrobu, skladování a zpracování lihu, ve znění pozdějších předpisů
- 81/2007 Sb.** Nařízení vlády, kterým se mění nařízení vlády č. 242/2004 Sb., o podmínkách provádění opatření na podporu rozvoje mimoprodukčních funkcí zemědělství spočívajících v ochraně složek životního prostředí (o provádění agroenvironmentál-

- ních opatření), ve znění pozdějších předpisů
- 79/2007 Sb.** Nařízení vlády o podmínkách provádění agroenvironmentálních opatření
- 61/2007 Sb.** Vyhláška, kterou se stanoví podrobnosti značkování a barvení vybraných minerálních olejů a značkování některých dalších minerálních olejů
- 35/2007 Sb.** Vyhláška o technických podmínkách požární techniky
- 34/2007 Sb.** Vyhláška o značkování některých dalších minerálních olejů
- 28/2007 Sb.** Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 232/2004 Sb., kterou se provádějí některá ustanovení zákona o chemických látkách a chemických přípravcích a o změně některých zákonů, týkající se klasifikace, balení a označování nebezpečných chemických látek a chemických přípravků, ve znění vyhlášky č. 369/2005 Sb.
- 6/2007 Sb.** Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 255/2003 Sb., kterou se stanoví správná lékárenská praxe, bližší podmínky přípravy a úpravy léčivých přípravků, výdeje a zacházení s léčivými přípravky ve zdravotnických zařízeních a bližší podmínky provozu lékáren a dalších provozovatelů vydávajících léčivé přípravky, ve znění vyhlášky č. 220/2006 Sb.
- 624/2006 Sb.** Zákon, kterým se mění zákon č. 561/2004 Sb., o předškolním, základním, středním, vyšším odborném a jiném vzdělávání (školský zákon), ve znění pozdějších předpisů, a zákon č. 111/1998 Sb., o vysokých školách, ve znění pozdějších předpisů
- 615/2006 Sb.** Nařízení vlády o stanovení emisních limitů a dalších podmínek provozování ostatních stacionárních zdrojů znečišťování ovzduší
- 598/2006 Sb.** Nařízení vlády, kterým se zrušuje nařízení vlády č. 66/2005 Sb., o minimálním množství biopaliv nebo jiných paliv z obnovitelných zdrojů v sortimentu motorových benzinů a motorové nafty na trhu České republiky
- 597/2006 Sb.** Nařízení vlády o sledování a vyhodnocování kvality ovzduší
- 592/2006 Sb.** Nařízení vlády o podmínkách akreditace a provádění zkoušek z odborné způsobilosti
- 581/2006 Sb.** Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 206/2004 Sb., kterou se stanoví požadavky na odběr vzorků, postupy a metody zkoušení osiva a sadby
- 570/2006 Sb.** Vyhláška, kterou se mění vyhláška Ministerstva životního prostředí č. 356/2002 Sb., kterou se stanoví seznam znečišťujících látek, obecné emisní limity, způsob předávání zpráv a informací, zjišťování množství vypouštěných znečišťujících látek, tmavosti kouře, přípustné míry obtěžování zápachem a intenzity pachů, podmínky autorizace osob, požadavky na vedení provozní evidence zdrojů znečišťování ovzduší a podmínky jejich uplatňování
- 545/2006 Sb.** Vyhláška o kvalitě dodávek plynu a souvisejících služeb v plynárenství
- 514/2006 Sb.** Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 54/2002 Sb., kterou se stanoví zdravotní požadavky na identitu a čistotu přídatných látek, ve znění pozdějších předpisů
- 510/2006 Sb.** Vyhláška, kterou se mění vyhláška Ministerstva průmyslu a obchodu č. 93/1999 Sb., kterou se stanoví postupy pro kvantitativní analýzu dvousložkových směsí textilních vláken
- 509/2006 Sb.** Vyhláška, kterou se mění vyhláška Ministerstva průmyslu a obchodu č. 92/1999 Sb., kterou se stanoví způsob označování textilních výrobků údaji o složení materiálu, ve znění vyhlášky č. 9/2005 Sb.
- 474/2006 Sb.** Vyhláška, kterou se mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 26/2001 Sb., o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky, o náležitostech žádosti o neuvedení ingredience na obalu kosmetického prostředku a o požadavcích na vzdělání a praxi fyzické osoby odpovědné za výrobu kosmetického prostředku (vyhláška o kosmetických prostředcích), ve znění pozdějších předpisů, a zrušuje vyhláška č. 75/2003 Sb., o stanovení názvosloví ingrediencí kosmetických prostředků
- 456/2006 Sb.** Vyhláška, kterou se mění vyhláška Ministerstva vnitra č. 255/1999 Sb., o technických podmínkách věcných prostředků požární ochrany, ve znění nařízení vlády č. 352/2000 Sb.
- 455/2006 Sb.** Vyhláška o stanovení požadavků na kvalitu paliv používaných pro vnitrozemská a námořní plavidla z hlediska ochrany ovzduší

Recenze



Herta Ziegler (ed.):

Flavourings: Production, Composition, Applications, Regulations

2. kompletně přepracované vydání, Wiley-VCH Weinheim, pevná vazba, 852 stran, cena € 229. ISBN 3-527-31406-7

„Flavourings“ jsou velmi kvalitní a obsažný přehled o výrobě, zpracování a použití nejrůznějších chuťových a aromatických doplňků potravin. Kniha je zároveň encyklopedií, ale i příručkou běžných i moderních analytických metod používaných v této oblasti potravinářské chemie. Zabývá se dále toxikologickými, právními a etickými aspekty spojenými s touto doménou chemie. Soustřeďuje znalosti téměř čtyřiceti expertů jak z oblasti výzkumu, tak z průmyslu.

Rozvoj požadavků potravinářského průmyslu a výzkumu na chuťové a aromatické přísady, na modifikátory chuti a vjemů spojených s požíváním potravy během po-

sledních let stále roste tak, jak se industrializuje náš život a jak roste poptávka po potravinách s vysokými užitnými hodnotami. Spotřebitel žádá nejen výrobky stále nové a lepší, ale hledá nové technologie zpracování, lepší užitné hodnoty, chuť, potěšení z výrobku plynoucí z vnímání všemi smysly, ale požaduje zároveň výrobek kvalitní, stabilní, zdravý a užitečný.

Nové zpracování klasické příručky Ericha Zieglera z osmdesátých let minulého století „Die natürlichen und künstlichen Aromen“, již jednou přepracované v roce 1998 Hertou Zieglerovou, ocenila mezinárodní odborná veřejnost. Její druhé vydání, dedikované osmdesátým narozeninám Ericha Zieglera, je přehledem všeho důležitého pro praxi i bádání.

Kniha obsahuje informace o surovinách přírodního, biotechnologického a syntetického původu. Přehled literatury zasahuje nejnovější zdroje za každou kapitolou a bohatý rejstřík usnadňuje práci s obsažnou příručkou. Hlavní kapitoly se soustředí na výrobní postupy, suroviny, směsi surovin, použití, dochucování nápojů, cukrovinek, pečiva, zmrzlin, mléčných produktů, vývarů, polévek a omáček. Část o analýzách pojednává o kontrole kvality, analytických metodách a mikrobiologických zkouškách; zabývá se i otázkami chiralit. Závěrečná část patří právním a toxikologickým aspektům; nevyhýbá se ani aspektům požadavků hlavních náboženských skupin. Poslední částí je zmiňovaný rejstřík.

Kniha je provedena technicky velmi dobře dle standardů nakladatelství Wiley-VCH. Slabinkou je nehomogenní ztvárnění strukturálních vzorců, které zřejmě pocházejí z různých zdrojů. Chybou je pak u přírodních látek absence grafického znázornění konfigurací. Celkově však lze knihu doporučit všem zájemcům od potravinářských chemiků, odborníkům na přírodní látky až po špičkové kuchaře, kteří se zabývají teorií toho, co v praxi dělají.

Autorka, Dr. Herta Zieglerová, se narodila v Mnichově r. 1961. Studovala chemii na univerzitě v Bayreuthu, kde se zaměřila na analytickou chemii. Doktorskou práci sepsala pod vedením Prof. Gerharda Spiteller. Pracuje jako vedoucí výzkumu firmy Erich Ziegler GmbH již od roku 1992, což jí umožnilo, jak je vidět, spojit zálibu s profesí.

Pavel Drašar

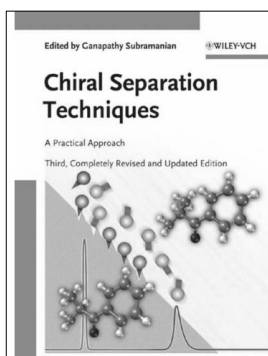
Tato kniha přináší týmž redaktorem úplně přepracovaný praktický manuál 'A Practical Approach to Chiral Separations by Liquid Chromatography' pro přípravu enantiomerně čistých látek v malém i velkém množství. Je známo, že po conterganové aféře v polovině minulého století došlo k bouřlivému nárůstu výroby enantiomerně čistých látek v celém chemickém průmyslu a v průmyslu farmaceutickém pak zvláště. Zsvěcená příručka, která ukazuje cesty, jak toho dosáhnout, je neobyčejně cenným přírůstkem do knihovny každého chemika orientovaného na syntézu, získávání přírodních látek, ale i kontrolu kvality a podobně. Zvláště, pokud postupy v ní popsané odrážejí současný stav poznání jak v chemické výrobě, tak v dodržování kvalitativních standardů farmaceutického a biotechnologického průmyslu. Reflektuje pozornost i na stále rostoucí roli zaručení bezpečnosti léčivých substancí v době, kdy se stále zpřísňují regulační pravidla. Značná pozornost je v tomto vydání věnována preparativnímu měřítku dělicích metod, elektroforéze, membránových separacím a biologickým testům.

Z hlavních témat knihy uvedme: Enantiomerní separace používající makrocyclické glykopeptidy jako stacionární fáze; Role polysacharidů v chirálních separacích v LC a CE; Chirální separace v superkritické fluidní chromatografii; Výměna chirálních ligandů v HPLC a CE; Použití korunových etherů jako stacionárních fází; Chirální separace amino- a hydroxykyselin v HPLC s komplexu Cu^{II} v eluentu; Chirální CE; Preparativní chirální separace; Separace pomocí molekulárně imprintovaných polymerů; Enantioselektivní biosenzory; CEC-UV, CEC-MS, MEKC-UV a MEKC-MS; Polarimetrické chirální detektory v separaci enantiomerů.

Ganapathy Subramanian je zkušeným autorem s více než třicetiletou praxí jak na akademické půdě, tak v průmyslu. Dnes je konzultantem v oblasti biotechnologií, který pracuje na vývoji a použití technologií, čistících postupů a chromatografických zařízení pro průmyslové použití v environmentálních aplikacích, potravinářství, výrobě kosmetiky a voňavek, a samozřejmě léků a léčivých substancí. Absolvoval v Madrasu v Indii a poté získal doktorát na University of Glasgow, kde pracoval v oblasti chemie přírodních látek. Jeho hlavním zájmem je použití přírodních látek v dělicích postupech a biotechnologiích. Dr. Subramanian je autorem a redaktorem řady knih v oblasti biotechnologie. V posledních 10 letech organizuje konference, které přispívají k výměně zkušeností a integraci mezi akademickým a průmyslovým světem.

Kniha je užitečnou pomůckou pro chirální separace, dobře vyvedená technicky i redaktorsky s jedinou slabinou a tou jsou strukturální vzorce, které jsou nejednotné, často zřejmě převzaté (někdy i z „internetu“) a co je horší, mnohdy (a to je v knize o chirálních separacích trestuhodně) pomíjející grafické vyjádření chiralit.

Pavel Drašar



Ganapathy
Subramanian (ed.)

Chiral Separation Techniques, A Practical Approach

Wiley-VCH, Weinheim, třetí
kompletně přepracované vydání,
říjen 2006, pevná vazba,
619 stran, cena € 159.
ISBN 3-527-31509-8

Freirich Keil, (ed.)

Modeling of Process Intensification

Vydal Wiley-VCH Verlag, Weinheim 2007. První vydání, 422 stran, 848 literárních citací na původní prameny.

Doporučená cena: 139.- Euro

ISBN 9783527311439

Předložená kniha se zaměřuje na metody matematického modelování při intenzifikaci chemických procesů. Intenzifikace procesu je velmi rozsáhlá disciplína a zahrnuje expertní znalosti v mnoha rozdílných oblastech. Intenzifikace při vývoji nových aparátů a postupů, buď dramaticky zlepšit chemické nebo biologické procesy zmenšením rozměrů zařízení, zvýšením energetické účinnosti, snížením produkce odpadů, zlepšením vlastní bezpečnosti, nebo přinese nové poznatky do procesního inženýrství zavedením nově vyvinutých zařízení a výrobních postupů. Intenzifikace procesu je perspektivní disciplína a lze očekávat, že v budoucnu přinese i řadu překvapivých objevů.

Do této knihy, která sice nepokrývá všechny vývoj v dané oblasti, ale spíše ukazuje aktivity v modelování některých reprezentativních problémů, přispěli experti z různých oblastí intenzifikace procesů, a to jak z průmyslu, tak akademické sféry. Nové zařízení, nové procesy, stejně jako jejich nestacionární provozování vyžadují také nové přístupy k modelování a na ty se kniha především zaměřuje. Kniha kombinuje znalosti procesního inženýrství a modelování procesů a je současně první knihou, která pokrývá všechny metody modelování aplikované na intenzifikaci procesů.

Jak editoři, tak autoři jsou renomovanými experty z průmyslové i akademické oblasti se zkušenostmi v modelování a integraci chemických procesů. Přestože jde o knihu, na jejímž zpracování se podílela řada autorů, podařilo se díky pečlivé práci editorů předložit čtenářům dílo, které působí ucelenou formou. Kniha je bohatě vybavena ilustracemi, matematické modely jsou podrobně dokumentovány a každá kapitola navíc poskytuje velké množství odkazů na původní literární zdroje.

Definice intenzifikace procesů jsou značně různorodé, ale spojuje je základní myšlenka vývoje, který vede k podstatně menším, čistším a efektivnějším technologiím. O matematickém modelování jako účinném nástroji této

intenzifikace pojednávají i kapitoly této knihy. Na zpracování této velmi obsáhlé publikace se podílelo 21 autorů, kteří aktuální témata rozdělili do 11 kapitol. První dvě kapitoly představují úvodní přehled a pohled na problematiku intenzifikace z hlediska uživatele – průmyslu. Další kapitoly jsou pak věnovány jednotlivým tématům. Následující seznam aplikací prezentovaných v jednotlivých kapitolách je uveden v následujícím seznamu názvů kapitol:

- Modelování intenzifikace procesu – úvod a přehled
- Intenzifikace procesu z hlediska průmyslu
- Modelování a simulace mikroreaktorů
- Modelování a simulace reaktorů se zkrápěným tokem provozovaných v nestacionárním stavu
- Membránové reaktory s pevným ložem
- Intenzifikace procesu založená na monolitech s mikrokanály různého měřítka
- Modelování chemických reakcí v superkritických tekutinách – zejména ve vodě
- Ultrazvukové reaktory
- Modelování a simulace chromatografie s pohyblivým ložem
- Modelování reaktivní destilace
- Experimentální a teoretické vysvětlení slabého a silného gradientu magnetického pole v chemických vícefázových procesech

Z uvedeného výčtu názvů kapitol a velkého množství odkazů na původní literární zdroje je zřejmé, že kniha souhrnně přináší přehledy nejnovějších informací o aktuálních tématech inženýrství chemických reakcí a nových typů chemických reaktorů.

Zárukou vysoké odborné úrovně knihy je i osobnost hlavního editora, profesora chemického reakčního inženýrství na technické univerzitě v Hamburku s předchozími zkušenostmi z vývoje řady procesů u fy UHDE.

Kniha přináší řadu témat od simulace chemických reaktorů a procesů až po metodiku jejich efektivního provozování a navrhování. Pojednává o aktuálních tématech multidisciplinárního zájmu a představuje tak užitečný zdroj informací cenný nejen pro praxi, vědu a výzkum, ale i pro výuku na vysokých školách. Kniha je cennou pomůckou jak pro inženýry, tak i výzkumníky a vysokoškolské učitele.

*Vratislav Tukač***Bulletin představuje****Novinky v oblasti výpočetní techniky**

Dne 11. 4. 2007 se při příležitosti uvedení nových produktů na český trh uskutečnila tisková konference pořádaná firmou HUMUSOFT s.r.o. Na této konferenci byly prezentovány novinky a inovované verze programů této společnosti a firmy The MathWorks, jejímž je Humusoft

výhradním zástupcem pro Českou republiku a Slovensko. HUMUSOFT s.r.o. je znám jako přední výrobce programových nástrojů pro technické výpočty, modelování a simulace, The MathWorks je producentem výpočetního, vývojového a simulačního prostředí MATLAB. S tímto produktem je důvěrně obeznámena za svého vysokoškolského studia většina studentů našich technických vysokých

škol, chemiky samozřejmě nevyjímaje.

Inovovaná verze produktu MATLAB, distribuovaná pod názvem MATLAB Release 2007a, přináší podstatné novinky především v oblasti paralelních výpočtů. Paralelizace algoritmů je v nové verzi implementována na třech úrovních. V první z nich lze využít nově dodávané základní matematické knihovny s podporou více jader. K využití této vlastnosti stačí pouze základní MATLAB, paralelizace je prováděna automaticky, žádný dodatečný toolbox není potřeba. Druhou úroveň implementace paralelních algoritmů je Distributed Computing Toolbox. Ten v nové verzi umožňuje běh až čtyř paralelních procesů na jednom počítači bez nutnosti licence MATLAB Distributed Computing Engine. Třetí úroveň implementace paralelních algoritmů je společné využití Distributed Computing Toolboxu a MATLAB Distributed Computing Engine, které přináší možnost běhu paralelních procesů nejen na jednom počítači s více procesory, ale také v síti počítačů, s maximálním počtem 256 procesorů. MATLAB, Simulink a jejich nadstavby tvoří špičkové integrované prostředí pro vědeckotechnické výpočty, modelování, návrhy algoritmů, simulace, analýzu a prezentaci dat, měření a zpracování signálů, návrhy řídicích a komunikačních systémů. Typickými uživateli jsou vědečtí pracovníci a technici v telekomunikacích, energetice, automobilovém, leteckém, kosmickém a jaderném průmyslu, pracovníci v oblasti chemie, lékařství, biotechnologie, životního prostředí a dalších přírodních věd. MATLAB a Simulink jsou v současnosti standardem v oblasti technických výpočtů a simulací. Na světě je provozováno více než 400 tisíc licencí.

Pro plné využití paralelních výpočtů nabízí HUMUSOFT řadu vysoce výkonných pracovních stanic navržených pro optimální výkon. Jedná se o stanice HeavyHorse, které představují výkonný a cenově přístupný paralelní výpočetní systém založený na 64-bitových dvoujádrových procesorech AMD Opteron. K dispozici jsou v konfiguracích 4–8 procesorů.

Firma HUMUSOFT s.r.o. dále uvádí na trh novou verzi COMSOL Multiphysics™ 3.3a, švédské společnosti COMSOL®. COMSOL Multiphysics umožňuje modelování a simulaci fyzikálních procesů popsaných parciálními diferenciálními rovnicemi s následným řešením metodou konečných prvků. Vedle 32- a 64-bitových operačních systémů Windows a UNIX může tato verze pracovat pod novým operačním systémem 64-bit/32-bit Microsoft Windows Vista a pod platformou Macintosh s procesorem Intel. Verze 3.3a obsahuje rozšířenou knihovnu materiálů s více jak 2500 různými druhy rozdělenými do skupin podle typů a fyzikálních vlastností. V knihovně lze materiály vyhledávat podle názvu nebo podle označení v normě DIN a UNS. V nové verzi je k dispozici import datových souborů ve standardu CHEMKIN® umožňující číst formáty dat používané v chemickém průmyslu v oblasti spalování, chemických reakcí v reaktorech a v oblasti chemických procesů v atmosféře.

HUMUSOFT s.r.o. a firma Lanner Group Ltd. dále uvádějí na trh České republiky a Slovenska novou verzi

programu WITNESS 2007. Jedná se program pro simulaci a optimalizaci podnikových procesů, který je považován za jeden ze světově nejúspěšnějších nástrojů pro simulaci výrobních, obslužných a logistických procesů. Používá se pro podporu rozhodování vedoucích pracovníků při řešení organizačních, technických a provozních problémů souvisejících zejména s restrukturalizací a zlepšováním podnikových procesů.

Další informace k uvedeným produktům lze nalézt na <http://www.humusoft.cz/pub>.

Pavel Chuchvalec

ACD/Labs FreeWare CD pro ČR a SR



Společnosti ACD/Labs® Toronto Kanada, SciTech® sro Praha a redakce časopisu Chemické listy přinášejí čtenářům CD s plnými verzemi posledního špičkového editoru ACD/ChemSketch s příslušenstvím. Na CD jsou programy verze 10 ACD/ChemSketch FreeWare, ACD/ChemBasic, ACD/3D Viewer FreeWare, ACD/IUPAC Name FreeWare Add-On, ACD/I-Lab Add-On a ACD/LogP Add-In. Čtenářům je udělena neexkluzivní a nepřenositelná licence pro použití doma a na půdě vzdělávacích institucí, případně pro vzdělávací účely; bez časového omezení. Uživatelům v prostředí, které nesplňuje výše uvedenou podmínku, je udělena třicetidenní zkušební lhůta k legálnímu používání a vyzkoušení programů. Plně a platně znění licenčních podmínek je na instalačním CD. Zároveň je na CD uživatelská příručka v angličtině a češtině, anglický „tutorial“ a instalační návod.

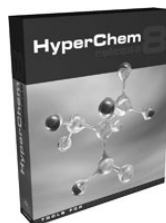
Další programy a dokumenty může zájemce získat na webové adrese URL <http://www.acdlabs.com/download/>.

Pomocí řádně nainstalovaných programů může uživatel kreslit strukturní vzorce, počítat hodnoty některých pozorovatelných veličin, v to počítaje i logP, znázorňovat molekuly v trojrozměrném pohledu, programovat některé další funkce editoru v jazyce ACD/ChemBasic, generovat názvy molekul a připojit se k webovému serveru ACD/I-Lab. Je nutno připomenout, že některé služby serveru ACD/I-Lab jsou zdarma; nicméně většina je uživateli účtována.

Pokud v čísle již CD chybí, použijte instalaci z <http://www.acdlabs.com/download/>.



pad

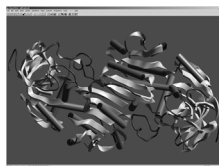
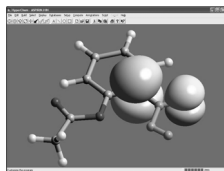


HyperChem verze programu (release 8.0, vyd. 18/5 2007, Hypercube USA, cena 28625 Kč (akademická) 41125 Kč (plná), bez DPH. Obj. č. DAH8.0-SA-1, resp. DCH8.0-SA-1. Samozřejmě jsou nabízeny i „upgrade“.

Známý softwarový balík HyperChem je sofistikovaným prostředím pro molekulární modelování, které je dlouhodobě známo mezi odborníky pro jednoduchost používání a kvalitu výsledků. Balík sjednocuje nástroje jako 3D vizualizaci a animaci s kvantově chemickými výpočty, molekulární mechanikou a dynamikou a přináší mnohem více nástrojů pro molekulární modelování než kterýkoliv jiný program pro prostředí Windows.

Nejnovější verze programu, HyperChem Release 8.0, je plnou 32-bitovou aplikací, která byla vyvinuta pro operační systémy Windows 95, 98, NT, ME, 2000, XP. Současná verze je plně kompatibilní s Microsoft Vista. HyperChem Release 8.0 nyní zahrnuje mnohem více užitečných nástrojů než kterákoliv dřívější verze a podporuje též řadu nástrojů z jiných zdrojů (multiple third-party applications). Dokonalé zobrazení (rendering) bylo vždy jednou z předností prostředí HyperChem. Pokud se týče tzv. Third-Party Interfaces, umožňuje HyperChem 8 práci na úrovni grafického a GUI prostředí (včetně zobrazení výsledků) pro celou řadu příbuzných výpočetních balíčků, které mohou zahrnovat *ab initio* a semi-empirické moduly jako GAMESS a MOPAC2007. V rámci balíku HyperChem 8 je zahrnuto legální použití (source code) pro řadu takových programů.

Jako novinku umožňuje verze 8 interaktivní výpočty v módu typu „batch“. Další novinkou je, že program je



nyní na úrovni tzv. „universally double precision“. Novou vlastností je též použití UNDO a REDO v manipulacích s molekulárními modely a práce se seznamem v minulosti použitých souborů.

Významné vylepšení nazvalo též získávání geometrických veličin z modelů proměřováním zadaných bodů, čar a rovin. Pro kreslení alternativních modelů se vyplatí použít nástroje H->R, který nahradí jeden substituent druhým.

Nově upravenými výpočetními možnostmi jsou výpočty volných energií, tepelných kapacit, energií v nulovém bodu (Zero-Point Energies), rovnovážných konstant. Nově je pro výpočty připravena semi-empirická metoda RM1 (Gerd B. Rocha, Ricardo O. Freire, Alfredo M. Simas, James J. P. Stewart: RM1: J. Comput. Chem. 27, 1101 (2006)).

Zdokonaleny jsou výpočty perturbačních energií pro MP2. Výpočet umožňuje separaci konfiguračních interakcí z tzv. „Single Points“. Výpočet IČ a UV spekter nyní znázorňuje i obálku šíře čar a je zdokonalena vibrační analýza a elektrická pole pro MM.

Zajímavou možností je též využití vlnových funkcí klasické částice v potenciálové jámě, zejména pro výukové účely.

Zvědavý čtenář nalezne více informací na nových webových stránkách <http://www.hyper.com/>.

Pavel Drašar

Odborná setkání

První studentská konference mladých přírodovědců v Olomouci

Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého uspořádala dne 18. května pro žáky základních a studenty středních škol Olomouckého kraje přírodovědeckou konferenci. Toto setkání, ve všech ohledech velmi podobné skutečné vědecké konferenci, bylo vyvrcholením více než půlroční společné práce žáků, studentů, jejich pedagogů a vysokoškolských pracovníků z PřF UP. Konference byla rozčleněna do tří sekcí. V sekci *Věda je zábava* soutěžily školní kolektivy - přírodovědné kroužky založené na základních a středních školách. Zástupci těchto kroužků prezentovali práce na zadané téma: *Voda a nápoje* (1. stupeň ZŠ), *Med, pokrm bohů* (2. stupeň ZŠ) a *Rostliny, léčivé látky a drogy* (SŠ). V sekci *Badatel* soutěžili jednotlivci z řad středoškolských studentů, kteří se věnovali vědecké práci pod vedením vysokoškolských pedagogů. Třetí sekci tvořili žáci a studenti zapojení do korespondenčně-elektronické soutěže *Labrynt*. Všechny tyto aktivity zaštiťuje projekt STM-Morava pracovně nazvaný **Věda v přímém přenosu**, který je podporován Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy. Cílem projektu je přispět k vývoji nových metod soutěží tvořivosti mládeže. Ve třech výše uvede-



Vítězové sekce *Věda je zábava* z Gymnázia Šternberk

ných sekcích bylo v prvním roce zapojeno více než 300 žáků a studentů nejen z Olomouckého kraje. Mladí přírodovědci si rozšířili znalosti především z chemie, ale i fyziky, biologie a matematiky. Nejlepší kolektivy a jednotlivci byli za skvělou práci oceněni. V sekci *Věda je zábava* byli

nejúspěšnější studenti Gymnázia Šternberk, Gymnázia Kojetín a Gymnázia Jakuba Škody z Přerova. Příspěvky v sekci *Badatel* měly překvapivě vysokou úroveň, zvláště uvážíme-li, že studenti prezentovali výsledky po zhruba půl roce práce. Téměř všechny prezentace byly srovnatelné s výkony vysokoškolských studentů při obhajobách bakalářských prací, některé dokonce dosahovaly úrovně diplomových prací. Nakonec byly oceněny přednášky Olgy Ryparové z Gymnázia Hranice (Analýza mikroorganismů kapilární elektroforézou), Pavla Polcra z Gymnázia Šternberk (Co nám výpočetní chemie prozradí o způsobu stabilizace struktury proteinů?) a Josefa Skuly ze SŠTO Olomouc (Elektrony útočí aneb elektronová mikroskopie),

nejlepší poster prezentovali Alexander Popa a Michal Mrůka ze Slovanského Gymnázia Olomouc (NMR-studium nových cytotoxických cytokininových nukleosidů). V sekci *Labyrint* se mezi staršími umístili Petr Distler (Gymnázium Jeseník), Klára Adamíková (Arcibiskupské Gymnázium Kroměříž), Petra Prokešová (Gymnázium Jeseník) a mezi mladšími Petra Schmidlerová (ZŠ Horní Čermná), Dominik Dušek (Gymnázium Lanškroun) a Jiří Grunwald (ZŠ Horní Čermná).

Děkujeme všem žákům, studentům a učitelům za aktivní účast, ještě jednou blahopřejeme všem vítězům!

za organizátory Petr Tarkowski a Martin Kubala

Osobní zprávy



Doc. Ing. František Tomis, CSc. se v srpnu 2007 dožije 85 let

František Tomis se narodil 14. srpna 1922. Po maturitě (1941) nastoupil do závodu Fatra v Napajedlích, kde pracoval jako vývojový technolog.

V letech 1945–1949 studoval na strojní fakultě Vysoké školy dr. Eduarda Beneše v Brně, kde krátce působil jako asistent. Vrátil se do Napajedel, kde nastoupil do vznikající vědecko-výzkumné základny závodu Fatra. Věnoval se zpracování a používání nových materiálů, např. zaváděl výrobu vytlačovaných trubek z PVC na pístovém vytlačovacím stroji, výrobu PVB a PE folií a s ní spojenou výrobu sáčků, pytlů, odnosných tašek. Zabýval se výrobou PE trubek a zpracováním fluoroplastů. Organizoval kursy svařování PVC a PE pro instalatéry, které později přešly do působnosti Domu techniky SV UTS v Bratislavě.

Své bohaté zkušenosti prezentoval F. Tomis v odborných časopisech a na odborných konferencích a sympoziích v tuzemsku i v zahraničí. Byl spoluautorem monografie o PVC (1958, 1965) a polypropylenu (1965) a knihy *Plastické hmoty ve stavebnictví* (1964). Asistoval u zveřejnění původně interního časopisu (1964), který dnes vychází pod názvem *Plasty a kaučuk* a byl předsedou jeho redakční rady (1971–1976). Působil také jako expert na Kubě (1964–1965) a v Egyptě (1970, 1972).

Aktivně se podílel na práci komisí pro mezinárodní technickou normalizaci ISO TC 145 a ISO TC (61). Působil jako soudní znalec pro soudní a arbitrážní řízení.

Velice významná a záslužná je pedagogická činnost doc. Tomise. V roce 1959 byl pověřen přednáškami na

SVŠT v Bratislavě a později (1967) přešel na tehdejší detašované pracoviště SVŠT Bratislava, tehdy v Gottwaldově, které přešlo do působnosti VUT v Brně. Z něho vznikla Fakulta technologická VUT (1969). Docent Tomis byl jmenován vedoucím katedry gumárenské a plastikářské technologie (1967) a zaměřil se hlavně na její personální obsazení a budování teoretických základů disciplin, které katedra zabezpečovala. Věnoval se reologii polymerních systémů a procesům zpracování polymerů. Kvalitně vybudoval výzkumné laboratoře pro rentgenografii a elektronovou mikroskopii. Za příspěvní výrobních podniků, s nimiž udržoval velmi úzké kontakty, vybudoval technologické laboratoře pro studium struktury a vlastností polymerů a laboratoře pro měření a regulaci. Ročníkové a diplomové práce vypracovávali studenti v úzké návaznosti na potřeby praxe. Organizoval odborné praxe a bezdevizové výměnné praxe studentů v zahraničí. Vychovával nové vědecké pracovníky pro potřeby fakulty i praxe, posuzoval habilitační, doktorské aj. odborné práce. Působil v řadě odborných orgánů na vysokých školách, výzkumných ústavech, generálních ředitelstvích a podnicích. Za svou záslužnou odbornou a pedagogickou činnost byl mnohokrát oceněn.

Docent František Tomis, CSc. ukončil svou pracovní činnost na fakultě technologické odchodem do důchodu (1986). Avšak i nadále s ní spolupracuje jako člen komisí pro obhajobu dizertačních prací a jako oponent. Rovněž spolupracuje s redakcí časopisu *Plasty a kaučuk* a angažuje se jako člen České společnosti chemické. V roce 2005 mu byla udělena Cena rektora Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně.

František Tomis se zanedlouho dožije požehnaného věku 85 let. Všichni, kdo ho znají a spolupracují s ním, mu děkují za to, co vykonal ve prospěch vysokého školství ve Zlíně a přejí mu ještě dlouhá a činorodostí vyplněná léta života.

Milan Mládek
Fakulta technologická UTB ve Zlíně

Za profesorem Miroslavem Ebertem

Dne 6. května 2007 opustil akademickou obec prof. RNDr. Miroslav Ebert, DrSc. Narodil se 18. října 1927 a po absolvování budějovického gymnázia vystudoval po válce učitelský směr chemie–fyzika na přírodovědecké fakultě UK v Praze, kde navíc na pracovišti prof. Heyrovského získal v roce 1952 akademický titul RNDr. Jako učitel na přírodovědecké fakultě působil nepřetržitě od roku 1950, od roku 1964 jako docent, v osmdesátých letech získal hodnost doktora chemických věd a stal se profesorem anorganické chemie. Byl dlouholetým vedoucím katedry anorganické chemie (1969–1986) a měl velké zásluhy o odborný rozvoj svého oboru. Významně se podílel i na pedagogické práci, zejména základní přednáškou „Anorganická chemie“, kterou absolvovala velká řada studentů přírodovědecké fakulty, a dále přednáškami ve specializačním studiu, které sám zajišťoval ještě v dubnu tohoto roku. Vychoval dlouhou řadu diplomantů a aspirantů, kteří se dobře uplatnili jako vědci i pedagogičtí pracovníci, řada z nich našla i významné uplatnění v praxi. Přínosem byl i jeho podíl při organizaci mezinárodních konferencí o chemii fosforu a práce v odborné skupině Československé společnosti chemické. Jeho rozsáhlá vědecká práce je dokumentována řadou původních prací v odborných časopisech a učebnicích. Prof. Ebert patřil nejen k významným odborníkům v oboru, velice rád ale také přednášel a na zkoušky u něho vzpomíná dodnes řada absolventů fakulty.

Odešel po krátké nemoci, vědecké a pedagogické práci věnoval celý život své nadání, schopnosti a nezměrné pracovní úsilí.

Ivan Lukeš, Zdeněk Mička

Sedmdesátiletý jubilant prof. Ing. Lubomír Lapčík, DrSc., dr.h.c.

Významný pedagogický i světově uznávaný vědecký pracovník, narozený 6. května 1937 v Topolné u Uherského Hradiště. Činorodý člověk se širokým všeobecným vzděláním zlínské školy zahájil vysokoškolské studium na tehdejší Chemicko-technologické fakultě Slovenské vysoké školy technické v Bratislavě, dnes Slovenské technické univerzity. Na katedře textilu, celulózy a papíru založil v roce 1974 první polygrafické specializované vysokoškolské pracoviště v Československé republice. Studijně pobýval ve Velké Británii, Švédsku i Německu. V roce 1991 se stal vedoucím nově založené katedry polygrafie a aplikované fotochemie. V letech 1991–1992, kdy zastával funkci prorektora Slovenské technické univerzity, již započala jeho významná činnost na Vysokém učení technickém v Brně, spojená s obnovením Fakulty chemické po 41 letech. V tomto nesmírně těžkém období budování fakulty,

zpočátku bez potřebného zázemí a vybavení jak personálního, tak materiálního, prokázal prof. Lapčík mimořádné organizační schopnosti. Především díky jeho práci fakulta dokázala obstát ve dvou akreditacích a potvrdila tak svou životaschopnost nejen v pedagogické, ale i vědecké oblasti. V letech 1993 až 1997 se stal prvním děkanem. Poté byl znovu zvolen do této funkce i na další funkční období 1997 až 2000, po jehož skončení odešel pracovat na Fakultu technologickou VUT ve Zlíně, později Fakultu technologickou Univerzity Tomáše Bati.

Prof. Lapčík se vědecky zaměřil na aplikovanou fotochemii a koloidní chemii se specializací na kinetiku, zvláště na kinetiku procesu v makromolekulárních systémech a na teorii fotolitografických procesů v polovodičové technologii. Vývoj v chemii se však přiblížil k biologii, v symbióze základních přírodovědeckých oborů s obory technologickými. V současnosti se prof. Lapčík soustředil na problematiku fyzikální chemie makromolekulárních biomateriálů. Praktické úspěchy přináší do našeho každodenního života s pozitivními prvky v celém oboru polygrafickém.

Profesor Lapčík je fyzikálním chemikem evropského ohlasu, jedním z našich znalců, který byl v předchozích letech požádán Švédskou královskou akademií k vypracování návrhu kandidátů na prestižní Nobelovu cenu v oboru chemie. Je členem redakčních rad časopisů *Journal of Polymer Materials*, *Chemické zvesti*, ale i členem České společnosti chemické, Slovenské chemické společnosti a vědeckých rad univerzit, přednášel na mnoha zahraničních konferencích, zejména na univerzitách v Uppsale, Grazu, Salfordu, Ulmu, Bradfordu. Publikoval na 150 původních vědeckých prací ve světově významných časopisech. Je autorem anebo spoluautorem 60 patentů, 2 monografií a více než 80 výzkumných zpráv.

V rámci své odborné aktivity vychoval prof. Lapčík řadu vědeckých pracovníků. Vedl diplomové práce studentů, diplomantů a doktorandů. Někteří z jeho žáků jsou odborníky na domácích i zahraničních vysokých školách nebo špičkovými pracovníky v průmyslu.

Určitým vyvrcholením jeho odborného života bylo, když v roce 2004 při 105. výročí založení Vysokého učení technického v Brně byl v duchu univerzitních tradic slavnostně poctěn titulem *Doctor honoris causa*.

Při této příležitosti prof. Lapčík s radostí vzpomínal na minulé šťastná léta a považoval za svou milou povinnost poděkovat všem za obětavou spolupráci na obnovení Fakulty chemické z řad Vysokého učení technického v Brně, Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity a Fakulty chemicko-technologické Slovenské technické univerzity v Bratislavě.

Co nám v přání na mysli tane
je vždycky štěstí, zdraví právě.

Adolf G. Pokorný

80 let prof. Ing. Dr. Zdeňka Vodrážky, DrSc.

Jubilant se narodil 10. července 1927 v Plzni, kde také v letech 1938–1946 studoval na Masarykově reálném gymnasiu. Po krátké laboratorní praxi v Záluží u Mostu nastupuje jako student na Vysokou školu chemicko-technologického inženýrství Českého vysokého učení technického v Praze. Po úspěšném absolutoriu v r. 1950 pracoval dva roky na katedře fyzikální chemie jako externí pracovník Výzkumného ústavu pre petrochémiu (Nováky na Slovensku). Jeho úspěšná experimentální práce mu již v r. 1952 umožnila získání doktorátu technických věd po obhájení dizertační práce na téma „Oximace cyklohexanu“.

V témže roce nastupuje profesor Vodrážka do právě zakládaného Ústavu hematologie a krevní transfuze v Praze a rozvíjí zde svou další vědeckou aktivitu. V r. 1956 obhájil kandidátskou dizertační (na ÚOCHB ČSAV) práci na téma „Fotooxidace krevních bílkovin“ a v r. 1965 doktorskou dizertační práci (na ÚFCH ČSAV) zaměřenou na fyzikálně-chemické vlastnosti bílkovin. Jako vedoucí biochemického úseku řídil výzkumné práce zaměřené na studium struktury a funkce krevních bílkovin a metabolismu krevních buněk. Publikoval více než 150 původních vědeckých sdělení, z větší části v renomovaných zahraničních časopisech, z oblastí chemie a fyzikální chemie bílkovin, jakož i teoretické a aplikované enzymologie. Je rovněž spoluautorem 21 patentů a řady výzkumných zpráv. Tyto práce získaly profesorovi Vodrážkovi a jeho spolupracovníkům uznání doma i v zahraničí. Za prioritní výsledky v tomto oboru obdržel jubilat řadu ocenění: Cenu vědecké rady Ministerstva zdravotnictví (1967), ceny České lékařské společnosti J. E. Purkyně (1966 a 1969), Státní cenu (1979) za objevené práce o hemoglobinu a bílkovinných transportujících hem, Zlatou plaketu J. Heyrovského za zásluhy o rozvoj chemických věd a Stříbrnou plaketu PřF Univerzity J. E. Purkyně v Brně (1987), Votočkovu medaili VŠCHT (1992).

Jako vynikající vědec se věnoval rovněž pedagogické činnosti. Od počátku šedesátých let působil nejprve v postgraduálních kursech Institutu pro další vzdělávání lékařů a farmaceutů a později přednášel Lékařskou chemii a biochemii na FVL UK, kde se také v r. 1967 habilitoval pro obor lékařské chemie. Kromě toho přednášel profesor Vodrážka vybrané kapitoly z biochemie na PřF UK a od r. 1976 také na VŠCHT v Praze. V r. 1979 přechází z ÚHK na VŠCHT a stává se vedoucím katedry biochemie a mikrobiologie. Kromě základního kursu Biochemie přednášel Enzymologii, Přehled biotechnologií, Biochemii člověka aj. Profesorem pro obor biochemie byl jubilat jmenován v r. 1983. S velkou chutí a energií se věnoval organizaci vědecko-výzkumné a pedagogické činnosti katedry. Pod jeho vedením dosáhla katedra významné výsledky v obou těchto oblastech. V oblasti vědecké orientoval katedru především na enzymologii. V pedagogice je nesporně jeho největším úspěchem prosazení a zformování nejprve mezioborového studia „Enzymové inženýrství“

a v r. 1990 samostatného učebního oboru (specializace) Obecná a aplikovaná biochemie. Profesor Vodrážka je autorem několika monografií, uvedme alespoň *Fyzikální chemii pro biologické vědy* (1975 a 1982), jejíž překlad vyšel rovněž v obou tehdejších německých státech (1976 a 1979), *Potravinářskou biochemii* (Vodrážka a spol. 1981), *Bioorganickou chemii* (Vodrážka a Krechl, 1991) a dvě vydání *Biochemie* (1992 a 1996). Učebnice *Biochemie* je stále tak populární, že se připravuje již její 3. vydání.

Jeho široký odborný přehled a zkušenosti byly a jsou využívány v práci odborných společností (místopředseda České spol. klinické biochemie, předseda sekce biochemické a toxikologické analytiky), vědeckých rad řady institucí, komisí pro obhajoby kandidátských a doktorských dizertačních prací, komisí pro státní závěrečné zkoušky, atestačních komisí aj. Mezi nejvýznamnější funkce profesora Vodrážky patřilo jeho členství v Radě vlády ČR pro výzkum a vývoj (1992–2000), členství ve vědeckých radách AV ČR, ÚOCHB AV ČR, FPBT VŠCHT, a v hodnotitelských komisích těchto ústavů. Byl též členem Akademického sněmu AV ČR. Kromě toho zastával funkci místopředsedy pracovní skupiny akreditační komise vlády ČR pro obor chemie (1991–2006).

Přehlédneme-li práci, kterou profesor Vodrážka vykonal, je zjevný jeho podíl na prosazování chemie v medicíně a zvláště pak ta skutečnost, že byl po mnoho let nositelem (společně s prof. V. Kalousem) biofyzikálně-chemického myšlení v této vědní oblasti. Vedle tohoto myšlenkového přínosu je nezbytné připomenout jeho organizační úspěch, kterým bylo založení samostatného oboru Obecná a aplikovaná biochemie se 3 zaměřením: obecná biochemie, biochemické technologie a příprava chemiků pro zdravotnictví na FPBT VŠCHT se zázemím 1. LF UK a ústavů AV ČR.

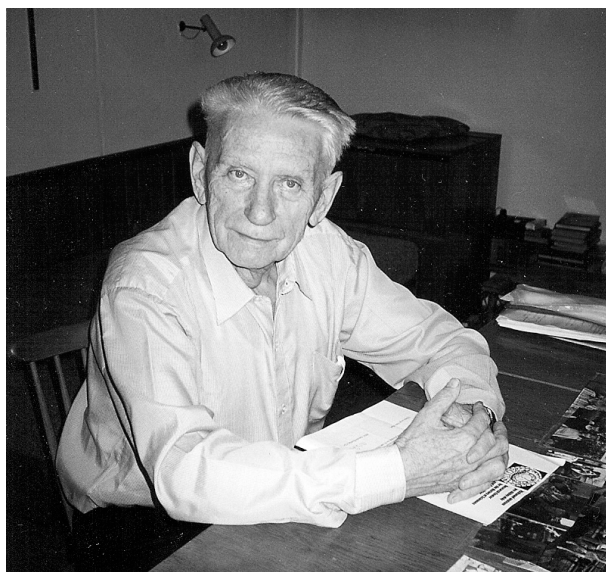
Přejeme panu profesorovi Vodrážkovi nejen za všechny jeho žáky, spolupracovníky a kolegy, ale i za celou naši chemickou, biochemickou a lékařskou veřejnost, pevné zdraví a spokojenost s dosaženými výsledky.

Pavel Rauch.

Osmdesát pět let pana prof. Ing. Dr. Miloslava Ferlese, DrSc.

Dne 7. února 2007 se v dobrém zdraví a v dobré pohodě dožil 85 let známý organický chemik a vysokoškolský pedagog pan prof. Ing. Dr. Miloslav Ferles, DrSc. Myslím, že mu mohu srdečně blahopřát a popřát dobré zdraví do dalších let nejen za sebe, ale i za generace žáků, diplomantů a aspirantů, které vychoval, i za řadu spolupracovníků, kteří s ním na katedře organické chemie VŠCHT v Praze řadu let působili.

Život a dílo pana profesora bylo už několikrát vzpomínáno při různých půlkulatých a kulatých narozeninách, a to z pera mnohem povolanějších. U příležitosti 60. narozenin to byl J. Farkaš, jeho spolužák z brandýského gymnázia a celoživotní přítel (Chem. Listy 76, 220 (1982)),



kteřý popsal cestu tohoto „sedláka“ z Čelákovic k chemii. Další příspěvek napsal V. Dědek, vedoucí katedry organické chemie (Sborník VŠCHT Praha, 44 9 (1982)). Odborné schopnosti, lidské a povahové vlastnosti jubilanta připomíná ve svém příspěvku J. Kuthan o 10 let později u příležitosti jeho 70. narozenin (Chem. Listy 86, 157 (1992)). Na společenskou angažovanost pana profesora v Československé a posléze v České společnosti chemické, jejímž členem je od roku 1942, upozorňuje M. Protiva při jeho pětasedmdesátinách (Chem. Listy 91, 314 (1997)). Poslední obsáhlý příspěvek, ve kterém je shrnuta celá vědecká a pedagogická činnost profesora Ferlese, napsal u příležitosti osmdesátin jeho dlouholetý kolega z katedry organické chemie a mladší spolužák z brandýského gymnázia a soused z blízké Toušeně, O. Červinka (Chem. Listy 96, 62 (2002)).

Je vůbec možné ještě na pana profesora něco prozradit? Uvedu alespoň pár osobních vzpomínek jako jeho žák, za kterého se snad mohu považovat, přestože mi přednášel „jenom“ základní kurz organické chemie. Bylo to v roce 1958, já jsem byl posluchačem Fakulty technologie paliv a vody. Byl to můj první kontakt s organickou chemií na vysoké škole a bylo mým štěstím, že nám ji přednášel tehdy ještě odborný asistent Ing. Dr. Miloslav Ferles. Byly to jedny z nejhezčích přednášek, které jsem absolvoval. Přednášel bez papíru, maximálně využíval plochu tabule, vzorce doslova kreslil, jakoby neustále zdůrazňoval, že organiku je nutné vstřebávat současně rukou i hlavou. Svým vystoupením prakticky předváděl i didaktickou stránku předmětu, která je v zahraničních učebnicích zdůrazňována slovy *...success in organic chemistry depends on writing correct Lewis structures....* Samotnou disciplínu oživoval životopisnými údaji význačných chemiků a neváhal použít různé mnemotechnické pomůcky pro zapamatování si partií, v nichž logická struktura organické chemie selhává. Jeho přednášky posloužily nejenom mně. Šly doslova z ruky do ruky, zvláště mezi tehdejšími dálkaři. Neztratily se a dodnes je mám ve své knihovně.

V té době jsem netušil, že jako „palivář“ ukončím studium na vysněné Lukešově katedře organické chemie a už vůbec by mne nenapadlo, že budu mít jednou tu čest za tuto katedru organickou chemií učit a přednášet. Vzor, jak ji přednášet, už jsem tedy měl. Nemohu posoudit, jaký byl pan profesor u zkoušek. V té době nebylo pravidlem, aby studenti skládali zkoušku u svého přednášejícího. Znáám jej však od státních závěrečných zkoušek, kandidátských minim, a to jak zkoušený, tak i zkoušející, kdy už jsme byli jako kolegové členy téže zkušební komise. Vždy velmi laskavý, objektivní a spravedlivý.

Pan profesor byl poctivý v myšlení i v konání, v zaměstnání i doma. Byl náročný k ostatním i k sobě. Neznám důkladnějšího recenzenta. Podezírám jej, že pro něho musí případné chyby v textu asi světélkovat.

Profesor Ferles získal za svoji vědeckou, pedagogickou a společenskou činnost řadu ocenění a uznání. V roce 1973 mu byla udělena ČSSCH při ČSAV Hanašova medaile, v roce 1987 obdržel od VŠCHT pamětní medaili F. Štolby a v roce 1992 medaili Emila Votočka. V roce 1993 mu bylo uděleno čestné členství České společnosti chemické. Slovenská chemická společnost udělila panu profesorovi v roce 1980 stříbrnou a v roce 2001 zlatou medaili SCHS. Zcela určitě by si zasloužil i medaili za starost a péči o rodinu, kdyby se takové medaile udělovaly.

Vzpomínky se píšou v čase minulém. Ale pan profesor je mezi námi a je stále aktivní. Navštěvuje přednášky pořádané Ústavem organické chemie VŠCHT pro chemickou veřejnost, je členem výboru skupiny historie chemie. Ještě koncem minulého roku provedl velmi rychle recenzi rukopisu o názvosloví. Obsah svého posudku vyjádřil nejprve stručně slovy: „Představte si, že jsem se při čtení textu ani jednou nerozčílil“, což od něho znamená něco jako „prospěl s vyznamenáním“.

A tak svůj příspěvek zakončím paně profesorovým oblíbeným pozdravem.

Stálé zdraví, pane profesore.

František Liška

Prof. MUDr. Jiří Duchoň osmdesátiletý

Nechce se tomu věřit, jak ten čas, coby základní fyzikální veličina, letí. Utíká čím dále tím více i kdysi pohlednému a oblíbenému asistentovi na Lékařské fakultě Univerzity Karlovy v Praze z padesátých a šedesátých let, dnes osmdesátníkovi prof. MUDr. Jiřímu Duchoňovi, DrSc., emeritnímu přednostovi II. Ústavu lékařské chemie a biochemie I. Lékařské fakulty UK v Praze.

Jubilant se narodil 27. 7. 1927 v Praze v intelektuální rodině. Jeho otec, prof. Ing. Dr. František Duchoň, DrSc., původně vědecký pracovník Výzkumných ústavů zemědělských a později vedoucí Katedry agrochemie a výživy rostlin na VŠZ v Praze (bližší Vesmír 1997, 76, 584), byl svému jedinému synovi vzorem, jak po stránce lidské, tak i vědecké a pedagogické. Vypěstoval v něm trvalý vztah k přírodním vědám.



Prof. MUDr. Jiří Duchoň, DrSc. ve Faustově domě 2006

Obecnou školu vychodil Jiří Duchoň v Praze – Dejvicích v letech 1933–1938 a reálné gymnázium rovněž v Praze – Dejvicích, kde v roce 1946 s vyznamenáním odmaturoval. V témže roce zahájil studium na Lékařské fakultě UK v Praze, kde v roce 1952 promoval. Současně v letech 1946–1949 studoval obor chemie na Přírodovědecké fakultě UK v Praze.

Skutečnost, že výborně absolvoval kolokvium u profesora J. H. Křepelky na Přírodovědecké fakultě, mu otevřela dveře k profesoru MUDr. A. F. Richterovi, DrSc. na II. Ústav lékařské chemie LF UK, neboť profesor Richter si své demonstrátory pečlivě a náročně vybíral. Tento ústav měl díky profesoru Hamsíkovi tradici ve výzkumu pigmentů, zejména v oblasti porfyrinů a heminů. A byl to právě profesor A. F. Richter, který ze sbírek Německého ústavu lékařské chemie vybral lahvičku s nápisem „Melanin aus Melanosarkom“ (více detailů viz J. Borovanský: Chem. Listy 91, 925 (1997)), a tím v roce 1952 založil dlouholetou tradici výzkumu melaninových pigmentů a maligního melanomu na II. Chemickém ústavu, trvající právě 55 let. Mladý MUDr. Duchoň, fascinovaný tehdejšími úsilím o poznávání primární struktury bílkovin, nebyl zprvu přidělenou tematikou nadšen, avšak brzo došel k názoru, „že studium maligního melanomu umožňuje spojit zájmy chemické a medicínské a že v méně exponované oblasti výzkumu je větší pravděpodobnost výrazného úspěchu“. Další život mu dal plně za pravdu. Vynikající publikované výsledky z oblasti biochemických projevů onemocnění maligním melanomem, jmenovitě tzv. močových melanogenů, mu umožnily získat Eleanor Roosevelt Fellowship od UICC a WHO a v letech 1967–1968 pracovat v tehdejší „Mekce“ výzkumu melaninové pigmentace a melanomu na Harvard Medical School v USA u profesora T. B. Fitzpatricka.

V roce 1970 se stal tehdejší docent Duchoň prozatímním a v roce 1972 řádným přednostou II. Ústavu lékařské chemie a biochemie a zůstal v této funkci 24 let, až do 1. 4. 1996. Bylo štěstí, že v čele ústavu a katedry stál přednost, který z titulu své funkce měl nejen řídicí pravomoc, ale který byl především vynikající odborník a zanícený pedagog, gentleman a demokrat. Po dobu svého přednos-

tenství vytvořil na pracovišti klidnou atmosféru a dobré předpoklady pro vědeckou práci a záleželo jen na pracovnících samých, do jaké míry tuto atmosféru využili. V letech 1976–1990 bylo z problematiky maligního melanomu, pod vedením docenta Duchoně jako školitele, obhájeno deset kandidátských dizertačních prací, tři práce habilitační a čtyři diplomové či rigorózní práce (podrobné citace viz J. Duchoň: Sborník lék. 97, 1 (1996)). Doktorskou dizertační práci na téma „Příspěvek k biochemii maligního melanomu“ obhájil docent Duchoň na ČSAV dne 4. 5. 1992 a v děkovném projevu po obhajobě ji věnoval památce svého otce. Profesorem biochemie se stal v roce 1993. Mezinárodního ocenění se mu dostalo v září 1998, kdy u příležitosti 8. zasedání Evropské společnosti pro výzkum pigmentových buněk (European Society for Pigment Cell Research) v Praze se stal čestným členem této společnosti za svůj celoživotní vědecký přínos ve výzkumu metabolismu buněk produkujících melaniny.

Po stránce pedagogické byl profesor Duchoň vzorem svou zaníceností; jak říkával „Z pedagoga musí láska k předmětu vyzařovat, učitel se má rozdávat, to je nejlepší způsob, jak získat zájem studentů“. Přednášky často pro zpestření prokládal citacemi svého oblíbeného Karla Čapka. Byl oblíbeným přednášejícím i examínátorem a autorem velmi srozumitelných skript i editorem celostátní knižní učebnice Lékařská chemie a biochemie (1985), která byla vydána i ve slovenské verzi (1988). Obě verze jsou dodnes studenty používány, přičemž oddíl Lékařská chemie byl dvakrát dodatečně vydán ve formě skript i 2. Lékařskou fakultou UK.

Profesor Duchoň vždy citlivě vnímal nové trendy. V roce 1992 se stal spoluautorem skript „Molekulární biologie pro mediky a lékaře“ jeho vynikajícího žáka doktora J. Vachtenheima, která byla první učebnicí technik molekulární biologie na lékařských fakultách v Československu. Na základě rukopisu těchto skript získal ústav v letech 1992–1994 postupně dva granty od Ministerstva školství (V205 – „Molekulární biologie, molekulární genetik a patobiochemie“ a Fond dynamického rozvoje VŠ – 0145 „Rozvoj pre- a postgraduální výuky molekulární biologie a patobiochemie“), které umožnily základní přístrojové vybavení pracoviště, jež posléze vyústilo v zavedení molekulárně biologických technik na II. Chemickém ústavu.

Po odchodu do důchodu v roce 1996 zaměřil profesor Duchoň svou odbornou činnost hlavně do názvoslovné komise Českého komitétu pro biochemii a molekulární biologii a pravidelně přednášel a dosud stále přednáší v Učené společnosti prof. J. V. Košíře. V roce 2000 byl jmenován Emeritním profesorem Univerzity Karlovy a v tomtéž roce se stal členem Vědecké rady I. Lékařské fakulty UK, čímž se obnovil jeho styk s fakultním životem. V rámci odkazu profesora Duchoně se na II. Ústavu lékařské chemie a biochemie 1. LF (nyní Ústavu biochemie a experimentální onkologie 1. LF) dále rozvíjí výzkum v oblasti melanomu (např. v roce 2001 bylo z deseti grantů řešených na ústavu šest věnováno malignímu melanomu a melaninové pigmentaci).

Profesor Duchoň byl vědecky a publikačně velmi činný. Spolu s RNDr. Z. Pechanem napsal monografii „*Biochemie melaninů a melanogenese*“, publikoval, sám nebo se spolupracovníky, 150 původních časopiseckých prací či kapitol do monografií, 110 souhrnů ve sjezdových sbornících a téměř stovku příležitostných článků historického, vzpomínkového, jazykovědného, didaktického i filozofického charakteru. Jen na 10 jeho prací, kde je vždy prvním autorem a byly publikovány v prestižních časopisech, bylo jen do 90. let podle SCI více než 300 ohlasů (citací). Zpravidla vždy jen na základě pozvání přednášel na mezinárodních kongresech, konferencích a symposiích skoro ve všech státech Evropy i v USA, Kanadě, Japonsku a Australii. Jak již zmíněno, je vedoucím autorem celostátní učebnice „*Lékařská chemie a biochemie*“ (1985) a „*Lekárska chémia a biochémiá*“ (1988) a autorem či spoluautorem několika dalších učebnic, skript a učebních textů.

Profesor Duchoň je dlouholetým členem Národního komitétu pro biochemii a molekulární biologii a předsedou jeho názvoslovné komise. Je rovněž členem Oborové rady biochemie a patobiochemie postgraduálního doktorského studia v biomedicině na UK v Praze. Je čestným členem České společnosti klinické biochemie (1987–1993 členem výboru) a České lékařské společnosti J. E. Purkyně, členem České společnosti pro biochemii a molekulární biologii (1993–1997 členem výboru), České chemické společnosti, České onkologické společnosti a zakládajícím členem Učené společnosti prof. J. V. Koštitě.

Je zakládajícím členem International Pigment Cell Society (dnes Federation of Pigment Cell Societies), čestným členem European Society for Pigment Cell Research, členem Federation of European Biochemical Societies, International Union of Biochemistry and Molecular Biology (Education Committee), Union Internationale Contre le Cancer, New York Academy of Sciences a prestižního The Harvard Club of Prague.

Po první svatbě doktora Jiřího Duchoně v roce 1952 konstatoval profesor A. F. Richter: „Je vás škoda, mladý muži, pro vědu jste ztracen“. Profesor Duchoň mu dokázal pravý opak a jeho druhá žena, MUDr. Jarmila Duchoňová, rozená Vichová, mu byla celoživotní oporou, kterou bohužel před 5 lety ztratil. Jeho jediná dcera z prvního manželství Michaela (1952) emigrovala v roce 1980 do Anglie, t.č. žije v Austrálii, takže v bytě v Praze – Bubenči, kde od svých šesti let jubilant žije, bydlí nyní již jen se svými knihami, přírodovědnými sbírkami a vzpomínkami sám. Což mu ale nebrání ve snaze být stále ještě alespoň trochu – jak se dnes hezky česky říká – „in“.

Na závěr medajlonku přejeme našemu váženému a milému prof. MUDr. Jiřímu Duchoňovi, DrSc. do dalších let pevné zdraví, pohodu, spokojenost a neutuchající optimismus. To mu z celého srdce přejí nejen všichni členové Učené společnosti prof. J. V. Koštitě, ale spolu s nimi i všichni jeho bývalí žáci, kolegové a přátelé.

Josef Zahradníček

RNDr. Jiří Medek, CSc. stále vědecky aktivní pětadesátník

Před pěti lety jsem v Chemických listech 96, 843 (2002) blahopřál svému příteli, RNDr. Jiřímu Medkovi, CSc. k jeho osmdesátým narozeninám. Obdivoval jsem tehdy jeho mimořádnou vědeckou aktivitu a přál jsem mu, aby ještě dlouho pokračoval ve své úspěšné činnosti. Nechci zde opakovat to, co jsem tehdy, byť jen stručně, o jeho životě a práci zmínil, jen chci připomenout, že jeho jméno je ve světové literatuře známo a citováno jako „Medkova teorie“ a „Medkova rovnice“, které se zabývají doplněním parametrů charakterizujících sorpci v mikropórech. S ještě větším obdivem po dalších pěti letech, kdy se 20. května 2007 dožil osmdesáti pěti let, chci mu blahopřát k tomu, že stále ještě aktivně pracuje v Ústavu struktury a mechaniky hornin AV ČR, kde zavedl moderní výzkumné metody pro studium porézni struktury, že za posledních pět let publikoval dalších 11 původních prací v zahraničních časopisech s IF a rovněž prezentoval své výsledky přednáškami na vědeckých konferencích v zahraničí. Hlavním předmětem jeho výzkumu jsou interakce plynných molekul různé velikosti s tuhou fází a s tím spojené otázky adsorpce a absorpce, včetně separace obou dějů analýzou izoterem. Pro rozlišení krystalické a gelové struktury reverzibilních gelů navrhnul jako operativní metodu stanovení jejich mikrotvrdoti, která již našla své praktické uplatnění. Jeho práce představuje důležitý vědecký přínos k fyzikálně-chemickému výzkumu, zvláště v aplikaci na horniny. Neznám nikoho, kdo by zůstal v jeho věku na tak vysoké úrovni odpovídající současným požadavkům výzkumu, jako je on. K tomu mu chci zde blahopřát a jistě se v tom ke mně připojí nejen jeho současníci a pamětníci, ale i nová mladší generace, která může bohatě čerpat z výsledků jeho práce. Doufám, že mu budeme moci kromě zdraví znovu popřát k novým vědeckým úspěchům i při jeho dalším kulatém výročí.

Jan Kloubek

Prof. Ing. Juliu Pouchlému, DrSc., k osmdesátinám (22. 8. 1927)

Milý Juldo, činí nám velké potěšení, že Ti můžeme pogratulovat k osmdesátým narozeninám, které Tě přistiňují uprostřed tvůrčí práce. Ne nadarmo se říká, že někdo je starý ve dvaceti a jiný mladý v osmdesáti. A to je Tvůj případ. Přejeme Ti dobré zdraví, pohodu na těle i na duši, radost z další práce a jejích výsledků a dostatek energie na to, abys byl moudrou radou a svými životními zkušenostmi nadále přínosem svému okolí jako doposud. Srdečně

Tvoji přátelé z VŠCHT a ÚMCH AV ČR, v.v.i.

Jubileum Ing. Heleny Potěšilové

Paní Helena Potěšilová oslaví 17. srpna 2007 významné životní jubileum a chtěl bych využít této slavnostní příležitosti a podělit se s členy České společnosti chemické o pár vzpomínek z doby, kdy jsme společně pracovali v jedné z laboratoří Ústavu lékařské chemie, Lékařské fakulty v Olomouci. Úvodem několik řádek ze životopisu paní Heleny Potěšilové. Po maturitě na Reformním reálném gymnasiu v Brně absolvovala 6 semestrů odboru Chemického inženýrství na Vysokém učení technickém dr. E. Beneše v Brně. Během roku 1948 však byla těsně před absolvováním z politických důvodů ze studia vyloučena. Po příchodu do Olomouce nastoupila na počátku roku 1953 na Chemický ústav LF UP, a to jako pomocná laborantka u prof. Františka Šantavého. Pod jeho vedením však mohla v laboratoři uplatnit i dále rozvíjet teoretické a praktické znalosti nabyté během studia. Postupně se tak vypracovala na samostatnou pracovnici ve vědeckém výzkumu. U prof. Šantavého pracovala až do jeho smrti v roce 1983 a pak ve stejné oblasti výzkumu do konce roku 1987, kdy odešla do důchodu. V roce 1990 jí bylo na základě rehabilitace vysokoškolské studium na VUT ukončeno a byl jí přiznán titul inženýrky chemie.

Po celou dobu 35 pracovních let se Helena Potěšilová věnovala především studiu obsahových látek rostlin, převážně alkaloidů. Vypracovala originální chromatografické metody pro izolaci těchto látek. Je spoluautorkou více než 40 vědeckých publikací, z nichž řada je stále citována ve světové odborné literatuře. Spolupodílela se na strukturní a chemické charakterizaci tropolonových alkaloidů z rostlin ocúnovitých (rod *Colchicum*), mákovitých (*Papaver*) a starčkovitých (*Senecio*). Pro nás, kteří jsme začínali svou profesní kariéru za vedení prof. Šantavého, to byla „paní Helenka“. Stále usměvavá, dobrým slovem mírnící výtky pana profesora a vždy připravená pomoci ve chvíli, kdy se práce v laboratoři nedařila. Svými znalostmi a zkušenostmi byla téměř nepostradatelná. Její syn Tomáš zůstal rovněž věrný chemii. Při bilancování životní dráhy jedince je vždy kladena otázka „Jakou stopu v myslích pokračující generace zanechal člověk, na kterého vzpomínáme?“. U paní Heleny ji nevidím pouze v citacích prací, na jejichž vzniku měla často klíčový podíl. Vidím ji také v tom, jak nám nezištně předávala své vědomosti, jak nás vychovávala svým vlastním přístupem k experimentální práci, ale také v tom, že její práce žije v unikátní sbírce isochinolinových a tropolonových alkaloidů. Ty jsou nyní předmětem intenzivního studia mladou generací biochemiků na ústavě, kde paní Helenka strávila svá nejlepší léta.

Od roku 1952 je Helena Potěšilová členkou Československé společnosti chemické nyní České společnosti chemické (55 let) a byla dlouholetou členkou výboru olomoucké pobočky. Její činnost byla oceněna Čestným členstvím České společnosti chemické v roce 1997. Dne 11. 6. 2007 byla jubilantce rektorem Univerzity Palackého prof. Lubomírem Dvořákem udělena Pamětní medaile UP jako ocenění za její poctivou dlouholetou práci pro univerzitu.

Svou vzpomínku chci ukončit citátem „Co kdo umí,



Ing. Helena Potěšilová přebírá Pamětní medaili UP

lze dokázat jedině činem“ (Marie von Ebner-Eschenbach). Paní Ing. Helena Potěšilová jej svou prací naplnila.

Vilém Šimánek

Kolik československých biochemiků spalo v hubertusu prof. Koštíře?

(Vzpomínka k 100. výročí narození prof. Koštíře)

Jako student Fakulty všeobecného lékařství UK v Praze jsem se samozřejmě nedostal do bezprostředního primárního pedagogického styku s prof. J. V. Koštířem, ale to neznamená, že bych o legendě československé biochemie nevěděl vůbec nic. Rád jsem čítával jeho trefné články v Chemických listech, Vědě a Technice Mládeže a jiných periodících. Navíc můj budoucí školitel doc. Duchoň, velmi často rád vzpomínal na svá gymnasiální studia ve Velvarské ulici (a později v ulici Dušní, kam po dobu války byla škola přesunuta). Jeho učitelem chemie na těchto ústavech byl totiž prof. Koštíř, jehož velebil jako svého nejlepšího učitele, a který výrazným způsobem posílil jeho přírodovědné zanícení zažehlé rodinným prostředím a nasměroval jeho životní dráhu.

S panem profesorem Koštířem jsem se poprvé osobně setkal 18. 2. 1965 na pracovní schůzi „Chromatografie v klinické chemii a biochemii“ pořádané Čs. Společností chemickou při ČSAV a sekci klinické chemie Čs. Lékařské společnosti J. E. Purkyně v Plzni. Na tuto akci mne vyslal můj první školitel prof. MUDr. A. F. Richter, DrSc., abych jako starší pomocná vědecká síla prezentoval naši společnou práci „Chromatografický výzkum reakce glykolu s chlorethanolem“. Po té, co jsem si odbyl svou první přednášku mezi „dospělými“ a chystal se na vlak do Prahy, zastavil mne doc. Duchoň s RNDr. Pečanem z brněnské přírodovědecké fakulty a poučili mne, že ta „lepší“ část vědeckého setkání teprve nastane a že můj úmysl vrátit se domů, svědčí o mé naprosté vědecké ne-

zkušenosti. Nabídl mi, že mohu přenocovat na prázdném gauči v jejich dvoulůžkovém pokoji. Tu se vmísil do naší debaty vedle stojící pán, který pravil, že únorové noci bývají v plzeňských hotelích studené, a to zejména po návratu z baru, a nabídl mi svůj hubertus jako příkrývku pro nadcházející noc. To bylo mé první setkání s panem profesorem Koštířem.

Od té doby jsem pana profesora vídával při různých vědeckých akcích i při jeho návštěvách na našem II. ústavu lékařské chemie a biochemie FVL UK, kam chodíval podiskutovat zejména s odbornými asistenty RNDr. V. Králem a MUDr. „Zuzanou“ Blümelovou. Od poloviny sedmdesátých let minulého století frekvence návštěv pana profesora silně zesílila. To bylo tak: v letech 1968/69 čtyři učitelé našeho ústavu emigrovali, dva se rozhodli věnovat lékařské praxi a jeden v roce 1972 zemřel. Doc. Duchoň jako přednosta od roku 1970 tak šéfoval „mladé bandě“ začátečníků a mírně pokročilých, kteří od roku 1975 začali předkládat kandidátské disertační práce. Poněvadž jsme byli pracovníci ústavu lékařské chemie a biochemie, platila nepsaná zásada, že jedním z oponentů by měl být RNDr. Velmi často býval tímto oponentem právě prof. J. V. Koštíř: byl zakladatelem čs. biochemie, byl RNDr., rád chodil mezi mladé lidi, a jako důchodce měl i čas.

Pan profesor mi oponoval habilitační práci v r. 1978. Z vlastní zkušenosti i od svých kolegů vím, že setkání s panem profesorem, co by oponentem, mělo jednotný ustálený ráz. Autor oponované práce připravil sedmičku červeného pro osvětlení oponenta a pan profesor přišel na naši provozovnu (čti do našeho ústavu). Vyzval uchazeče, aby mu vyložil, proč bylo zvoleno právě toto téma vědecké práce, a aby vlastními slovy trefně popsal obsah spisu. Mohlo by se zdát, že pan profesor práci nečetl, klade-li takové dotazy, ale opak byl pravdou. Po té, co uchazeč domluvil, pan profesor otevřel disertační spis a položil několik otázek na tělo. Po jejich zodpovězení byl adept vyzván, aby stručně uvedl, čeho si na dané práci nejvíc cení. Tuto otázku jsem v oné době pokládal za zcela zbytečnou, ale po letech, kdy jsem se stal sám oponentem, jsem dal panu profesorovi zcela za pravdu a sám tuto otázku rád pokládám. Odpovědi bývají někdy nečekané! Následovala mezihra, což byla přátelská vědecká diskuse, či spíše forma semináře, někdy cíleně vedena k tématu obhajované práce, jindy laděná v obecné rovině. V mém případě mi pan profesor vyložil, že plstěné podložky psacích strojů bývají zhotoveny z vlasů a slouží molům jako potrava z nouze v případě hladovění. Melanin ovšem vychází z jejich zařívací soustavy nedegradován. (Jedna z kapitol mého habilitačního spisu byla věnována otázce degradace melaninů). Setkání pravidelně končilo diskusí o chemické terminologii a o správném užívání odborného českého jazyka, poněvadž každý z nás se dopustil alespoň jednoho terminologického či jazykového lapsu.

I při vlastních obhajobách před komisí nastolení názvoslovných hříchů mělo signalizační funkci: znamenalo to, že konec obhajoby se blíží. Milovníkem odborné terminologie byl totiž nejen prof. Koštíř, ale i někteří členové komise – doc. Duchoň, doc. Večerek a mnohdy i prof.

Musil. Obhajoba kandidátské disertační práce většinou končila vášnivou názvoslovnou diskusí členů komise, kteří často zapomněli jak na přítomnost disertanta, tak na přítomnost usmívajícího se předsedy komise pro obhajoby z oboru 14-10-9 biochemie prof. MUDr. Jiřího Homolky, DrSc.

Rád vzpomínám na éru našich obhajob, protože to byla doba našeho mládí. Když si čas od času vzpomenu na své první setkání s panem prof. Koštířem, vytane mi na mysl i otázka položená v nadpisu mých vzpomínek.

Jan Borovanský

Doc. Ing. Jaromír Kaválek, CSc. sedmdesátníkem

Motto: Kdybychom neměli Kaválka, museli bychom si ho vymyslet.

Když pravidelně potkáváte docenta Jaromíra Kaválka s jeho vždy usměvavou tváří, jen stěží uvěříte, že tento náš milý kolega letos oslaví své významné životní jubileum. Ale začněme od počátku. Jaromír spatřil poprvé světlo světa v Pardubicích dne 21. 9. 1937. Jeho nejranější zážitky se však váží k semtínské kolonii stojící přímo za plotem chemičky, kde jeho rodiče žili v továrním bytě a otec pracoval jako vedoucí ve výrobě čpavku. Tyto rané zážitky hluboce ovlivnily další Jaromírovu kariéru, takže se po absolvování měšfánské školy zákonitě přihlásil na chemickou průmyslovku v Pardubicích, kterou v roce 1956 úspěšně absolvoval. Přestože nebylo tak zcela obvyklé, aby tehdejší absolventi střední průmyslové školy pokračovali ve studiu na vysoké škole, byl vzhledem k vynikajícím studijním výsledkům přijat ke studiu na nedávno vzniklou Vysokou školu chemicko-technologickou v Pardubicích. U přijímacích zkoušek brilantně vysvětlil mechanismus *Cannizzarovy* reakce, čímž si okamžitě získal přízeň tehdejšího examinátora a pozdějšího kolegy doc. J. Klicnara. Během jeho studia na vysoké škole jej uchvátila organická chemie, takže již jako student začal pracovat od roku 1959 na VŠCHT jako odborný instruktor. Zde také v roce 1961 vypracoval a obhájil pod vedením Dr. J. Schreiberova diplomovou práci s odvážným tématem „Pokus o chlormethylaci pyridinu“, která se tehdy u oponentů setkala s despektem, přestože se po mnoha letech ukázalo (viz. Anders E. a spol.: *J. Org. Chem.* 64, 3113 (1999)), že je tento problém úspěšně řešitelný. Po absolvování půlroční základní vojenské služby se v roce 1962 vrátil zpět na VŠCHT Pardubice, kde na Katedře organické chemie obhájil v roce 1969 kandidátskou disertační práci s názvem „Studium mechanismu kondenzace 2,3-dimethylchinoxalinu s benzaldehydem“. Zpočátku se na katedře věnoval syntéze heterocyklických sloučenin a azobarviv. V pozdějších letech začal spolupracovat s tehdejším docentem V. Štěrbou, s nímž spoluzaložil tradici pardubické kinetické školy. Přestože v té době nebylo módou publikovat, napsali spolu s dalšími kolegy celou řadu původních prací

zahrnujících kinetická studia základních mechanismů. Za celou svou kariéru je Jaromír autorem a spoluautorem více než 100 publikací v mezinárodních odborných časopisech s řadou citačních ohlasů. V roce 1981 byl hostujícím vědeckým pracovníkem na University of Wales v Bangoru ve skupině prof. C. J. M. Stirlinga. Přes své výsledky nebyl uznán tehdejší vedením školy hoden toho, aby se stal docentem, takže se mohl habilitovat teprve v roce 1990.

Během svého působení na katedře Jaromír vchoval celou řadu inženýrů a kandidátů věd resp. doktorů. Všichni jeho bývalí posluchači na něj dodnes vzpomínají jako na člověka s mimořádným přímým a lidským přístupem. Kromě toho svým nevšedním pedagogickým talentem dokázal vzdělat i celou řadu méně nadaných studentů.

Celá léta pracoval jako tajemník Katedry organické chemie, kdy přes rychle narůstající složitost a propracovanost veškerých účetních operací používal pro všechno výraz „petruchtovat“ a občas se mu tak podařilo získat i neplánované investice.

I přes pracovní vytížení se stačil věnovat svým koníčkům a zálibám. V mládí k nim patřil fotbal, horolezectví a jachting, v pozdějších letech pak myslivost a sokolnictví,

kterému se dodnes věnuje spolu se svou manželkou Martou. Kromě těchto aktivit stačil zplodit dvě dcery, postavit chatu, starat se o rodinný dům a nyní rekonstruovat chalupu.

Osobně je docent Jaromír Kaválek člověk s obrovskou životní silou a optimismem, s nímž dokázal překonat i své velmi vážné onemocnění. Přes své zdravotní omezení je dodnes velmi společenský a při různých příležitostech rád se svými kolegy a přáteli pohovoří nad sklenkou dobrého vína. Při těchto příležitostech často s úsměvem vzpomínáme na Jaromírovy bohatýrské kousky jako například převoz většího množství „vypůjčeného“ roztoku fosgenu v jeho osobním automobilu, přičemž odplyn z nádob byl vyveden škvírou v bočním okénku. Při zastavení na křižovatce pak následoval pokyn, abychom raději chvíli nedýchali, protože díky ztrátě rychlosti vymizel odvětrávací efekt.

Milý Jaromíre, do dalších let života Ti přejeme mnoho zdraví, radosti a úspěchů.

za kolektiv katedry V. Macháček, J. Hanusek a M. Sedlák

Výročí a jubilea

Jubilanti ve 4. čtvrtletí 2007

85 let

Prof. MUDr. Jiří Slavík, DrSc., (28.11.), LF MU Brno
Ing. Václav Cechner, (21.12.), VÚAB Roztoky u Prahy
Ing. Zdeněk Peřina, CSc., (24.12.), VÚFB Praha

80 let

Doc. RNDr. Milan Horák, CSc., (2.10.), ÚFCH J. H. AV ČR Praha
Ing. Milada Holubová, (29.11.), VCHZ Synthesia Semtín
Ing. Josef Latínák, CSc., (3.12.), VCHZ Synthesia Semtín
Ing. Antonín Pošta, CSc., (3.12.), VŠCHT Praha
RNDr. Milan Smíšek, (26.12.), Brandýs nad Orlicí
Prof. Ing. Jiří Macák, DrSc., (30.12.), VŠCHT Praha

75 let

Doc. RNDr. Dana M. Wagnerová, DrSc., (18.10.), ÚACH AV ČR Praha
MUDr. Jindřich Hyhlík, (25.10.), ČAZ VÚPP Praha
Prof. Ing. Milan Kuchler, DrSc., (14.11.), Univerzita Pardubice

70 let

Ing. Miroslav Matušek, CSc., (23.10.), FZÚ AV ČR
Ing. Jiří Šrogl, (9.12.), Západočeské pivovary Plzeň
Ing. Jitka Kahovcová, CSc., (19.12.), ÚOCHB Praha
Ing. Miloslava Buriánková, CSc., (23.12.), SZÚ Praha

65 let

Ing. Daniela Miholová, CSc., (10.10.), ÚFCH J. H. AV ČR Praha
Ing. Jitka Zeithammerová, (27.10.), ČVUT Praha
Ing. Ladislav Novotný, (19.11.), Pivovar Velké Popovice
Mgr. František Sova, (17.12.), ZŠ Kladno

60 let

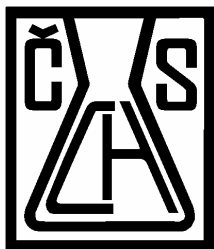
Ing. Jitka Hollerová, (6.10.), SZÚ Praha
Ing. Daniel Hájek, (14.11.), FOSFSA a.s. Břeclav
Ing. Jaroslav Líbal, CSc., (14.11.), IRAPA Štětí
MVDr. Ing. Marin Švigler, (16.11.), HERBEX Nedašov
Doc. RNDr. Lumír Hanuš, (20.11.), Hebrejská univerzita Jeruzalem
RNDr. Josef Drozd, CSc., (2.12.), Pliva – Lachema a.s. Brno

Blahopřejeme

Zemřelí členové společnosti

Ing. Ludvík Beránek, DrSc., ÚCHP AV ČR Praha, zemřel 21. dubna 2007 ve věku 82 let
Prof. RNDr. Miroslav Ebert, DrSc., PĚF UK Praha, zemřel 6. května 2007 ve věku 79 let

Čest jejich památce



Česká společnost chemická
Sekretariát a redakce Chemických listů
Novotného lávka 5
116 68 Praha 1
tel./fax: 222 220 184, redakce tel. 222 221 778
e-mail: chem.spol@csvts.cz
<http://www.csch.cz>

Proč se stát členem České společnosti chemické

Zapojení v České společnosti chemické, členu Asociace českých chemických společností, přináší individuálním chemikům kromě vlastního členství v největší a nejstarší profesní organizaci chemiků:

- celosvětově uznávanou příslušnost k jedné z nejstarších profesních organizací v chemii na světě,
- možnost zapojení se do práce a komunikace v jedné z místních či odborných poboček ČSCH,
- kontakty, informace, služby, možnosti, uplatnění...
- podstatné slevy u vložného na sjezdech a konferencích, jejichž oficiálním pořadatelem je ČSCH,
- možnost dostávat 4× ročně zdarma tzv. „bulletinové číslo“ Chemických listů,
- možnost objednání předplatného Chemických listů s významnými slevami,
- možnost objednání „osobního balíku předplatného“ Chemických listů a časopisů konsorcia EUChemSoc,
- členské informace o nových knihách, produktech a službách i o připravovaných odborných akcích na celém světě, informace o dění v evropských chemických strukturách
- možnost zažádání o evropskou nostrifikaci chemického vzdělání a odborné praxe spojenou s udělením titulu Eurchem, platného v celé EU,
- přístup ke službám a slevám poskytovaným členskými organizacemi EuCheMS pro členy národních organizací,
- možnost přidruženého členství v IUPAC,
- možnost získání a doporučení členské přihlášky do významných zahraničních chemických společností (RSC, ACS, GDCh, GÖCh, SFC aj.),
- možnost získání příležitostných slev obchodních firem spolupracujících s ČSCH,
- možnost uplatnit informace z vlastní pracovní činnosti (výsledky, novinky, inzerce, tisková oznámení aj.),
- možnost zveřejnění vlastního oznámení v rubrice Bulletinu Chemických listů „Práci hledají“,
- vedle individuálního členství je možné kolektivní členství firem,
- a řadu dalších služeb.

Jak se stát členem ČSCH

Členská přihláška je k dispozici na internetových stránkách ČSCH nebo na sekretariátu ČSCH. Členství je přístupné pro všechny zájemce o chemii a přijetí nového člena doporučí dva členové ČSCH (doporučení je možné nahradit odborným životopisem), členství nabývá platnosti po schválení hlavním výborem ČSCH.

Výši členských příspěvků a možné slevy schvaluje na návrh předsednictva hlavní výbor ČSCH.



LABOREXPO

PRAHA · 26.–27. 9. 2007

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE, VYBAVENÍ, POMŮCKY A SLUŽBY LABORATOŘÍ

↻ VÝSTAVA

Jejím cílem je prezentovat dodavatele nejmodernější přístrojové techniky, laboratorního vybavení a širokou nabídku laboratorních pomůcek a spotřebního materiálu, odběratelům z laboratoří v průmyslu, zdravotnictví, ochraně životního prostředí, výzkumu, školství a veřejných službách.

↻ DOPROVODNÝ PROGRAM

Nedílnou součástí výstavy bude doprovodný program zaměřený na moderní trendy v analytické chemii a analýze, vývoji „bioléciv“ a nanotechnologií ve farmacii. Na přípravě programu se podílí Česká společnost chemická a Česká spol. pro biochemii a molekulární biologii.

↻ WORKSHOPY A SEMINÁŘE

V dalších prostorách Kongresového centra probíhají samostatné prezentace vystavovatelů a různé další semináře zaměřené na témata blízká nomenklatuře výstavy.

↻ MÍSTO SETKÁNÍ

V rámci výstavní plochy je vymezen prostor s nabídkou odborných časopisů, postery a místo pro odpočinek a občerstvení návštěvníků.

Místo konání:



K O N G R E S O V É · C E N T R U M
P R A H A

Mediální partneři:

Chemické listy • Bulletin ČSBMB • Mlékařské listy • Česká a Slovenská Farmacie • Plasty & Kaučuk • Kvalita potravin • Kvasný průmysl • Katalog Labo.cz • Chemweb.cz • Eurochem.cz • Chemportal.cz • Laboratorium - Przegląd Ogólnopolski • LAB magazine • Laboratoria.net

Organizátor a hlavní mediální partner:

CHEMmagazín
Casopis pro chemicko-technologickou a laboratorní praxi

VÍCE INFORMACÍ
REGISTRACE
AKTUÁLNÍ ZPRÁVY

WWW.LABOREXPO.CZ



LABOREXPO 2007

Praha 26. 9. – 27. 9. 2007

"Moderní trendy ve farmaceutických výrobcích"

Farmaceutický průmysl je jedním z nejdynamičtěji se rozvíjejících průmyslových oborů, ve kterém je podíl inovací zásadním faktorem růstu. V posledních letech se i v České republice daří rozvíjet nové metody a aplikace a sledovat mezinárodní trendy. Revolucí ve farmaceutickém průmyslu je nástup biotechnologie, která spolu s využitím nových materiálů a s novými přístupy analytické chemie mění současné terapeutické možnosti. Mezi základní předpoklady úspěchů v těchto aplikacích patří interdisciplinární přístup a kooperace pracovišť základního výzkumu s komerčními subjekty. Tento odborný seminář mapuje vybrané aspekty současného vývoje farmaceutického průmyslu a výzkumu v naší republice.

Program semináře:

26. 9. 2007

Ing. Miroslav Kuchař Dr.Sc. (Zentiva a.s.): „**Současné trendy výzkumu a vývoje léčiv**“

Prof. Dr. Karel Ulbrich, DrSc. (Ústav makromolekulární chemie AV ČR): „**Polymerní terapeutika**“

Dr. Ladislav Cvak (IVAX CZ): „**Přírodní látky v moderní farmacii**“

Prof. MUDr. RNDr. Vilém Šimánek, DrSc. (LF UP Olomouc): „**Rostlinné látky v etiologii a prevenci nádorových onemocnění**“

Doc. RNDr. Radek Zbořil, PhD. (PřF UP Olomouc): „**Magnetické nanočástice v medicíně**“

Ing. Jiří Protivínský (VŠCHT Praha, LASAK a.s.): „**Inovativní technologie úpravy povrchu dentálních implantátů pro rychlé a bezpečné vhojení**“

Prof. RNDr. Bohumil Kratochvíl, DSc. (VŠCHT Praha): „**Rozmanitost pevných farmaceutických substancí**“

Prof. RNDr. Jiří Barek, CSc. (PřF UK Praha): „**HPLC v analýze léčiv**“

RNDr. Dana Procházková (Sigma-Aldrich s.r.o.): „**Volba vhodné kolony pro HPLC**“

27. 9. 2007

Doc. Ing. Martin Fusek, CSc. (LIFE SCIENCES CAPITAL, s.r.o.): „**Bioléčiva**“

Doc. RNDr. Vladimír Viklický, CSc. (ÚMG AV ČR): „**Biosimilars – možnosti v České republice**“

Doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D. (LF UP Olomouc): „**Biologická léčba v onkologii: jak poskytnout správnou léčbu správnému pacientovi?**“

Doc. Ing. Josef Hájíček, CSc. (Zentiva a.s.): „**Biokatalýza ve farmaceutické chemii**“

RNDr. Zbyněk Prokop, Ph.D. (PřF MU-Loschmidtovy laboratoře): „**Využití enzymů ve farmaceutických výrobcích**“

RNDr. Milan Kalina (MERCK, s.r.o.): „**Některé aspekty chromatografických separací v downstream procesech**“

Více informací, registrace, aktuální zprávy: www.laborexpo.cz



Dosáhli jste úspěchu ve výzkumu? Chcete pozvat veřejnost i odborníky na zajímavou vědeckou akci? Zajímají vás novinky v oblasti přírodních věd?

Pak na adrese

www.projektmedved.eu/stredisko

navštivte nově vzniklé

Tiskové středisko vědy.

Aktivitu směřující k popularizaci vědy připravil řešitelský tým projektu Medializace vědy (MedVěd) Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

Garantem projektu i samotného střediska vědy je děkan Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého prof. RNDr. Juraj Ševčík, Ph.D. Tým tvoří odborníci z mediální i vědecké sféry.

Tiskové středisko vědy si klade za cíl vytvořit místo na internetu, kde si široké spektrum lidí od odborníků až po laickou veřejnost nebo novináře bude moci jednoduchým způsobem najít články, tiskové zprávy, avíza a výstupy z výzkumů z celé republiky.

Příspěvky přijímáme na adrese **veda@projektmedved.eu**. Zprávy bez zbytečného odkladu zařazujeme do systému, kde jsou tříděny podle regionu, kategorií nebo oboru. Portál tak nabízí snadnou orientaci v katalogizovaných zprávách, ale i vyhledávání pomocí fulltextového nástroje.

MedVěd – projekt medializace vědy

Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci, Třída Svobody 26, 771 46 Olomouc,

e-mail: info@projektmedved.eu, tel.: 585 634 004

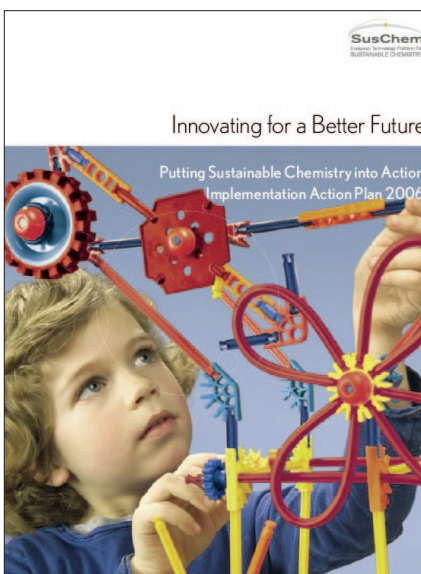
+ logo MedVěd

Sustainable Chemistry in action

On 8th March 2007, stakeholders from the European chemistry and industrial biotechnology community met in Brussels to celebrate the achievements of the European Technology Platform for Sustainable Chemistry (SusChem) and to discuss its role in maintaining chemical innovation at the heart of Europe's research and competitiveness agenda. SusChem has three technology areas: Industrial Biotechnology, Materials Technology and Reaction & Process Design – all chosen as areas of existing European competitive advantage and with the most potential to drive sustainability. A Policy Group also looks at horizontal cross-cutting factors that affect innovation and research in all technology areas.

Although less than three years old, SusChem has an impressive record. It was founded as a joint initiative of the European Chemical Industry Council (Cefic) and the European Biotechnology Industry Association (EuropaBio) with European Commission support. The Royal Society of Chemistry (RSC) and the Gesellschaft Deutscher Chemiker (GDCh) have both been significantly involved with SusChem from the beginning and other EuCheMS member societies have helped organise complementary national SusChem bodies.

European Technology Platforms are multi-stakeholder forums for defining and implementing a Strategic Research Agenda (SRA) that can support innovation in fields of science and technology important for the future competitiveness of Europe and European industry. From an initial Vision document produced in 2004, SusChem has formulated an impressive SRA and a comprehensive Implementation Action Plan (IAP) over two-and-a-half years of intense consultation with a wide range of individuals and organisations. SusChem's IAP is structured around eight themes of major importance for sustainable chemistry and society: bio-based economy, energy, health care, information and communication technologies, nanotechnology, sustainable quality of life, sustainable product



The SusChem IAP document.

and process design, and transport.

The IAP is now moving from words to action. Framework Programme 7 already contains clear references to ideas from the IAP. A fully implemented IAP research portfolio would cost around 1.4 billion Euro annually with funding anticipated on a 50/50 basis from both public and private sources. SusChem is working proactively to facilitate the building of collaborative research teams through initiatives such as Brokerage Events, the first of which was held on 24 January and a novel Partnering Database hosted on its website. SusChem-relevant projects may also be independently commissioned by industry, via national government research programmes, or through other European sources. SusChem will monitor implementation and work to ensure that all topics are covered within the IAP timeframe.

SusChem is a long-term initiative and represents a great opportunity for European chemical sciences and engineering. Its success depends on widespread participation from all parts of the chemical community, and EuCheMS will play its part.

www.suschem.org

Sustainable Neighbourhood

A high level conference on research for sustainable development in Europe will be organised in Leipzig (8 to 10 May 2007) by the German Federal Ministry of Education and Research as part of the German EU Presidency. It aims at providing a forum for debate of current research on sustainability, which is seen as an engine for European competitiveness within the Lisbon agenda. The conference will be hosted by Annette Schavan, the German Minister of Education and Research, and the European Commission will be represented by Janez Potocnik, Commissioner for Science and Research. Some 500 participants from science, funding agencies, industry and politics are expected and will discuss aspects of energy, water, climate change and many other issues highly relevant for sustainability research.

EuCheMS has submitted a paper entitled "Chemistry's Innovative Contributions for Addressing the Energy Challenge of the Future" for the conference program, to be presented by Ferdi Schüth, Director at the Max-Planck-Institut für Kohlenforschung in Mülheim, Germany.

In his contribution Ferdi Schüth will address the essential role of chemistry in transforming the energy infrastructure, such as cheaper, more efficient materials for photovoltaic and thermoelectric devices to convert sunlight or heat into electricity, the utilization of biomass to generate electricity, fuels and feedstock in bio-refineries, innovative battery systems, and crucial components for a hydrogen infrastructure. In addition he will present the activities of EuCheMS, as the European umbrella organisation for the chemical sciences to address these challenges through its recently established Working Party on Chemistry and Energy.

www.fona.de/eng/



7th EU Research Framework Programme

Representatives of science, politics and economics presented the 7th EU Research Framework Programme (FP7) in January 2007 in the International Congress Centre, Bonn. Federal Research Minister Annette Schavan and EU Research Commissioner Janez Potocnik opened the meeting with about 1300 participants. The FP7 for 2007 to 2013 has a total budget of 54.4 billion Euro, i.e. about 60 percent more for research projects than in FP6 (2002 to 2006). "Science and research have the highest priority in Europe now", said Schavan in her inaugural address and "the new program shows that we are determined to do more than ever before for science and research in Europe."

The minister expects important impulses for the economy and additional jobs. A primary goal of the programme is to strengthen the scientific and technological bases of the industry in the European Union. The main topics of FP7 are energy, health, environment and climate change, nutrition, agriculture and biotechnology, nanotechnology, material and manufacturing technologies, transport, safety research and space as well as information and communication technologies. Potocnik stressed that the FP7 is most important for Europe: "We know the challenges, let us begin."

The EU has opened a new chapter in research funding by including basic research, but the efficient transfer of research results into products will play a crucial role. This aspect is particularly relevant for the European Research Council (ERC). The new FP7 is also a clear signal to the promotion of young people in science and research, and a further emphasis focuses on reducing bureaucracy. The new rules help to reduce the barriers and to increase the attractiveness of the programme for small and middle enterprises (SME). The projects of SMEs can be funded in future up to 75 percent.

EuCheMS and the Initiative for Science in Europe

EuCheMS helps shape the political impact of chemistry in 21st century Europe and – joining forces with other scientific disciplines – has become associated with the Initiative for Science in Europe (ISE) over the past three years

The ISE is an independent body whose mission is "to be a platform of European learned societies and scientific organisations whose aim is to promote mechanisms to support basic science at a European level, involve scientists in the design and implementation of European science policies, and to advocate strong independent scientific advice in European policy making."

It originated in 2003 with an initial membership comprised of the European Molecular Biology Laboratory (EMBL), European Molecular Biology Organisation, Federation of the Societies of Biochemistry and Molecular Biology (FEBS), European Life Sciences Forum (ELSF), European Plant Science Organisation, EuroScience, European Science Foundation, European Physical Society and the Group of European Nobel Laureates.



Photo: BASF

José Mariano Gago, Director General of EMBL, became the first chairman and Luc van Dyke, ELSF, has been ISE secretary since 2003. In June 2005 Julio E. Celis, Secretary General of FEBS, became the chairman of ISE, following José Mariano Gago's re-appointment as a Minister in the Portuguese government.

The opinions of ISE were notably involved in the formation of the ERC. Currently, the ISE is enlarging its Steering Committee to incorporate disciplines not yet represented. EuCheMS is actively involved in these discussions and is committed to work with our colleagues towards a "Vision for Science in Europe" to ensure effective political planning and financial commitment for international competitiveness in European science in general.

Technology Platform "Food for Life"



Consultations arising from the Stakeholder Strategic Research Agenda have identified the need to address opportunities and challenges for local agri-food industries and for the research community at a national level. Such National Food Platforms are currently being established in Austria, Bulgaria, Czech Republic, Denmark, Estonia, Finland, Hungary, Italy, Latvia, Lithuania, Poland, Romania, Russia, Slovenia, Sweden, The Netherlands, Turkey and Ukraine.

In addition to facilitating links between national food chain stakeholders and strengthening the links with the European

Platform, these national activities have also led to the formulation of a national food strategy in a number of countries and, as a result, to food research having a higher profile. Such National Food Platforms will be networked with one another and with the European Technology Platform.

Kitti Németh (nemeth@vup.sk) of the Food Chemistry Division of EuCheMS will be responsible for this networking activity. It is expected that this network will provide information and support for other countries currently considering establishing their own National Food Platforms.

150th anniversary of the French Chemical Society

The roots of the Société Française de Chimie (SFC) can be traced to 1857 when three young students founded a club to discuss weekly the latest progress in chemistry in a Paris café. This club became the Société Chimique de Paris and Jean-Baptiste Dumas became the first President in 1859. The Society aimed “to contribute to the advancement and dissemination of studies in general chemistry through its proceedings, publications of its members, awards and promotions”.

In 1864, this Society was recognised by Napoleon III as a charity and ultimately became the Société Chimique de France (SCF) nearly 45 years later. A medal struck on the occasion of the centenary of the Society in 1957 portrayed the former Presidents Jean-Baptiste Dumas, Louis Pasteur, Marcellin Berthelot, Henri Moissan, Victor Grignard and Paul Sabatier.

The present Société Française de Chimie was founded in 1983, resulting from the merger of SCF and the Société de Chimie Physique, founded in 1908. The Société aims “to be open to any chemist” and to “gather all the chemists in France, regardless of their speciality or adherence to academic or industrial world”. In addition to its magazine, *L'Actualité Chimique*, SFC issued three journals: *Bulletin de la Société*



Chimique de France, *Journal de Chimie Physique* and *Analysis*, which are now incorporated to four European journals: *European Journal of Inorganic Chemistry*, *European Journal of Organic Chemistry*, *ChemPhysChem*, and *Analytical & Bioanalytical Chemistry*

With 150 years history, the Congress SFC 07 (16 to 18 July) is especially significant, and will be held in the Maison de la Chimie, in the heart of the St-Germain quarter of Paris. This event is broadly focussed on the impact of chemistry on the needs of society, and this will be developed in scientific sessions comprising six plenary and 36 keynote lectures within the framework of six thematic symposia. The Congress includes the EuCheMS Lecture 2007 by Steven V. Ley and three Nobel Laureates among the plenary talks. www.sfc07.fr

Chemical Societies to award Eurobachelor Label

The European Chemistry Thematic Network (ECTN) Association has entered into cooperation agreements with three influential Chemical Societies, who will now handle Eurobachelor applications from their own countries forthwith. These agreements cover the UK and Ireland (Royal Society of Chemistry), Italy (the Società Chimica Italiana) and Germany (the accreditation agency ASIIN, of which the Gesellschaft Deutscher Chemiker and Dechema are members).

From 2008 the cooperation will be extended to include the Euromaster Label, which is now

in its pilot stage in an EU-supported project. It is also planned to set up a further agreement covering cross-border accreditation, so that the partner organisations can deal with applications from other countries as well as their own.

At present, however, all applications for the Euromaster Label, and all Eurobachelor Label applications from countries other than Germany, Italy, Ireland and the UK will still be dealt with directly by the ECTN Association.

www.eurobachelor.eu

Portrait: The Austrian Chemical Society

With ca. 1800 members the Gesellschaft Österreichischer Chemiker (GÖCH) is Austria's largest chemical society and was founded in 1897. Analytical chemistry is represented by the Austrian Society of Analytical Chemistry (ASAC). Interaction at the national level is carried out by twenty-four working parties (seven from ASAC) and local subgroups, while internationally the GÖCH participates in international societies. The formal institutions are the presidium and the board. One chief executive and the head of the office manage the activities of the society.

The GÖCH connects chemists by organising events, enabling the publication of scientific articles and coordinating information and services for members. The journal *Monatshefte für Chemie* is produced in co-operation with the Austrian Academy of Science, and the GÖCH is also a partner in *Chemistry – A European Journal*. Organised conventions include the national “Chemistry Days” (“Österreichische Chemietage”) and international symposia. Congresses and public discussions cover chemistry and neighbouring disciplines of science, e.g. the “Chemistry Week” organised with the association of teachers and the Federation of Chemical Industry (FCIO). The GÖCH also supports job seeking and partnership requests, and offers consulting services where required.

Special emphasis is placed on supporting students and improving chemistry education. Lectures by renowned international experts are organised regularly at Austrian universities and – together with FCIO – annual prizes are rewarded for outstanding doctoral and masters theses. The GÖCH also participates in the evaluation of legislation and regulations concerning chemistry issues.

www.goech.at



Haio Harms, President, Gabriela Ebner, HO, Erich Leitner, CE

History of Analytical Chemistry

Ever since EUROANALYSIS II in Budapest 1975, special attention has been paid to the history of chemistry in the host country. This activity is coordinated by the Study Group "History" (Chair Duncan Thorburn Burns) of the EuCheMS Division of Analytical Chemistry. The Study Group has recently published "Some People and Places Important to the History of Portuguese Analytical Chemistry", has completed the parallel account for Italy and those for Spain and for Belgium, the host for EUROANALYSIS XIV, 9 to 14 September 2007.

The full listing of the contributions to the History of Analytical Chemistry in Europe made via the Study Group is available at www.dac-euchems.org under Reports, History.

Energy Policy and Chemistry

Europe's energy policy aims to be ambitious, effective and long-term. EuCheMS believes Europe is ideally placed technologically, economically and socially to demonstrate a successful low carbon economy. Chemistry will play a vital role in delivering sources of sustainable, secure and competitive energy, and in accelerating the competitiveness of low carbon technology. A recent EuCheMS workshop in Brussels illustrated the role of chemistry in reducing the European carbon emissions from power generation, industry, domestic living and transportation. A priority action list to determine how research and innovation in chemical sciences will help Europe to meet its targets will be developed.

www.euchems.org/Divisions/ChemistryEnergy/Index.asp

Newsletter: 1st Anniversary

The EuCheMS Newsletter has now been published for exactly one year. Your editorial team and the many contributors have brought you insights into the workings of EuCheMS and hope that you have enjoyed the contents as much as we have enjoyed publishing it for you. Now is the time to review our progress, to try to serve you even better. For this purpose, an opinion survey is in progress at the level of member organisations. Independent of this, your personal views are highly respected, and we encourage you to give us feedback by email at euchems@gdch.de by 31 May 2007.

Events 2007

8 – 10 May, Rome/Italy

ITALIC 4, Science & Technology of Biomasses: Advances and Challenges, www.stc.uniroma2.it/italic4

13 – 16 June, Syracuse/Italy

EUCHEM Conference on Pericyclic Reactions, www.unict.it/pr2007syracuse

26 – 30 June, Kharkiv/Ukraine

Modern Physical Chemistry for Advanced Materials, izmailov2007.univer.kharkov.ua

4 – 7 July, Vienna/Austria

9th Figipas, figipas.tuwien.ac.at

15 – 20 July, Vienna/Austria

ICBIC XIII, www.icbic13.ac.at

16 – 18 July, Paris/France

Congress of the Société Française de Chimie, www.sfc07.fr

22 – 25 July, Melbourne/Australia

In Vino Analytica Scientia 2007, www.csu.edu.au/nwgic/invino

5 – 11 August, Turin/Italy

41st IUPAC Chemistry Congress, www.iupac.org/symposia/2007

29 – 31 August, Paris/France

EURO Food Chem. XIV, www.eurofoodchem14.info

1 – 6 September, Sofia/Bulgaria

XVIIth EUCheMS Conference on Organometallic Chemistry, comc17.orgchm.bas.bg

4 – 8 September, Wrocław/Poland

2nd EuCheMS Conference on Chemistry for Life Sciences, www.lifesciences2007.uni.wroc.pl

9 – 12 September, Torun/Poland

11th International Conference on Chemistry and the Environment, www.50zjazd.ptchem.pl

9 – 14 September, Antwerp/Belgium

EUROanalysis XIV, www.euroanalysisxiv.ua.ac.be

16 – 19 September, Ulm/Germany

GDCh Chemistry Forum, Congress of Gesellschaft Deutscher Chemiker, www.gdch.de/wissenschaftsforum2007



Joint Lecture schemes

Nobel prize winner Yves Chauvin delivered the first joint RSC/SFC lecture at Imperial College in December in the presence of both the president and chief executive of the SFC – Armand Lattes and Jean-Claude Brunie – as well as René David, counsellor for science and technology. RSC President Jim Feast awarded Chauvin an honorary fellowship.

A 300 year old link between UK and Italy has been revived with the first Vignani lecture, jointly held by the RSC and the Società Chimica Italiana. The Italian John Vignani was Professor of Chemistry in Cambridge in 1702. The lecture was delivered at Cambridge University by Dan-

te Gatteschi, from the University of Florence. The Vignani lecture will alternate every two years between Italy and the UK.

Professor Varinder Aggarwal from the University of Bristol will give the first joint GDCh/RSC lecture (the Alexander Todd – Hans Krebs Lecture) at the GDCh-Science Forum in Ulm in September. A joint lectureship is also pending between the GDCh and the Hungarian Chemical Society (MKE). Named after Hungarian chemist George de Hevesy, the series will be inaugurated by a German scientist at the 100th anniversary of the MKE this year.

EuCheMS Newsletter

Newsletter coordinator: Alexander Lawson
Please send all correspondence and manuscripts to a.lawson@euchems.de

Editors: Ernst Guggolz, Uta Neubauer
Frankfurt am Main

Advisory board: Reto Battaglia (Switzerland), Claudine Buess Herman (Belgium), Pavel Drasar (Czech Republic), Roger Fenwick (UK), Philippe Garrigues (France), Wolfram Koch (Germany), Minos Leontidis (Cyprus), Evelyn McEwan (EuCheMS Secretariat) and Giovanni Natile (Italy).

Layout: Jürgen Bugler, Frankfurt am Main

Production: *Nachrichten aus der Chemie*

Publisher: Gesellschaft Deutscher Chemiker on behalf of EuCheMS
Postfach 900440, D-60444 Frankfurt am Main
euchems@gdch.de

EuCheMS General Secretary:
Evelyn McEwan, c/o RSC, Burlington House, Piccadilly, London W1J 0BA, UK
secretariat@euchems.org
www.euchems.org

EuCheMS is registered as "Association internationale sans but lucratif" (AISBL, international non-profit association)
AISBL-Registered office: Avenue E. Van Nieuwenhuysse 4, B-1160 Brussels



OBSAH**ÚVODNÍK** 535**REFERÁTY****Inhibitory proteas v hlíze bramboru** 536
L. Hanusová a V. Čurn
Technologické a mikrobiologické aspekty výroby 542
piva so sníženým obsahom alkoholu
R. Selecký a D. Šmogrovičová**LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY****Kvantitativní PCR detekce nepovoleného** 550
přibarvení vína bezinkami (*Sambucus nigra*)
J. Drábek, M. Jalůvková a I. Frébort
Studium vlivu sacharosy a polyethylenglykolu 556
na produkci hypericinů a hyperforinu v rostlinách
***Hypericum perforatum* L. vysokoučinnou**
kapalinovou chromatografií
M. Pavlík, J. Vacek, B. Klejdus a V. Kubáň
Optimalizácia extrakcie fenolových zložiek 563
z pohánky na základe výsledkov plánovaného
experimentu
A. Mikulajová, M. Takácsová, P. Alexy
a L. Brindzová
Analýza obrazu a aktivita intracelulárních 569
esteras jako nový analytický nástroj pro sledování
růstu a životnosti embryonálních kultur smrků
(*Picea* sp.) ovlivněných kadmiiem
J. Petřek, J. Baloun, H. Vlašínová, L. Havel, V. Adam,
J. Víteček, P. Babula a R. Kizek
HPLC stanovení obsahu vitamínu E v krmných 578
surovinách, krmivech a potravinách
R. Hosmanová a M. Douša
Výběr a zhodnocení vhodných metod pro 584
stanovení antioxidační aktivity fialových
a červených odrůd brambor
M. Šulc, J. Lachman, K. Hamouz, M. Orsák,
P. Dvořák a V. Horácková**OPRAVA** 591**DISKUSE** 592

CONTENTS**EDITORIAL** 535**REVIEW ARTICLES****Protease Inhibitors in Potato** 536
L. Hanusová and V. Čurn
Technological and Microbiological Aspects 542
of Low-Alcoholic Beer Production
R. Selecký and D. Šmogrovičová**LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS****Quantitative PCR Determination of Elderberries** 550
(*Sambucus nigra*), an Illegal Additive to Wine
J. Drábek, M. Jalůvková, and I. Frébort
High Performance Liquid Chromatographic Study 556
of Influence of Saccharose and Poly(ethylene glycol)
on Production of Hypericin and Hyperforin
by *Hypericum perforatum* L.
M. Pavlík, J. Vacek, B. Klejdus, and V. Kubáň
Optimization of Extraction of Phenolic 563
Compounds from Buckwheat Based on
an Experimental Design Method
A. Mikulajová, M. Takácsová, P. Alexy,
and L. Brindzová
Image Analysis and Activity of Intracellular 569
Esterases as New Analytical Tools for Determi-
nation of Growth and Viability of Embryonic
Cultures of Spruce (*Picea* sp.) Treated with Cadmium
J. Petřek, J. Baloun, H. Vlašínová, L. Havel, V. Adam,
J. Víteček, P. Babula, and R. Kizek
HPLC Determination of Vitamin E in Feed 578
Materials, Compounded Feeds and Foods
R. Hosmanová and M. Douša
Selection and Evaluation of Methods for Deter- 584
mination of Antioxidant Activity of Purple-
and Red-Fleshed Potato Varieties
M. Šulc, J. Lachman, K. Hamouz, M. Orsák,
P. Dvořák, and V. Horácková**ERRATA** 591**DISCUSSION** 592

BULLETIN ČESKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ

**Sto let Chemical Abstracts –
sto let historie chemie, 1907–2007** 595
J. Šilhánek

**Uplynulo 10 let platnosti Úmluvy o zákazu
chemických zbraní** 602
L. Středa a M. Bláhová

Ze života chemických společností 604
Zprávy 606
Střípky a klípky o světových chemících 608
Akce v ČR a v zahraničí 613
Členská oznámení a služby 613
Zákony, které ovlivní život chemiků 614
Recenze 615
Bulletin představuje 617
Odborná setkání 619
Osobní zprávy 620
Výročí a jubilea 628

BULLETIN OF THE CZECH CHEMICAL SOCIETIES

**Hundred Years of Chemical Abstracts –
Hundred Years of History of Chemistry,
1907–2007** 595
J. Šilhánek

**Convention on the Prohibition of Chemical
Weapons - Ten Years in Force** 602
L. Středa a M. Bláhová

From the Chemical Societies 604
News 606
Biographical Sketches of World Chemists 608
Meetings Calendar 613
Member Services and Announcements 613
Laws that could Influence Life of Chemists 614
Book reviews 615
Bulletin Presents 617
Meetings and Conferences 619
Personal News 620
Anniversaries and Jubilees 628

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 101 (2007), čís./no. 7 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 131, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 117 • ISSN 0009-2770, ISSN 1213-7103 (e-verze) • evidenční číslo MK ČR E 321 • Vydává Česká společnost chemická jako časopis Asociace českých chemických společností ve spolupráci s VŠCHT v Praze, s ČSPCH a ÚOCHB AV ČR za finanční podpory Nadace Český literární fond a kolektivních členů ČSCH • IČO 444715 • Published by the Czech Chemical Society • VEDOUcí REDAKTOR/EDITOR-IN-CHIEF: B. Kratochvíl • REDAKTORŮ/ EDITORS: J. Barek, Z. Bělohav, P. Drašar, J. Hetflejš, P. Holý, J. Horák, P. Chuchvalec, J. Podešva, P. Rauch, J. Volke; Bulletin: I. Valterová; Webové stránky: R. Liboska, P. Zámotný • ZAHRANIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTORŮ/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA), V. Větvíčka (USA), L. Opletal (Hradec Králové), P. Tarkowski (Olomouc) • KONZULTANT/CONSULTANT: J. Kahovec • VÝKONNÁ REDAKTORKA/ EDITORIAL ASSISTANT: R. Řápková • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: E. Borsig, M. Černá, L. Červený, E. Dibuszová, J. Hanika, Z. Havlas, I. Kadlecová, J. Káš, J. Koubek, T. Míšek, J. Pacák, V. Pačes, O. Paleta, V. Růžička, I. Štibor, V. Šimánek, R. Zahradník • ADRESA PRO ZASÍLÁNÍ PŘÍSPĚVKŮ/MANUSCRIPTS IN CZECH, SLOVAK OR ENGLISH CAN BE SENT TO: Chemické listy, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel./phone +420 221 082 370, fax +420 222 220 184, e-mail: chem.listy@csvts.cz • INFORMACE O PŘEDPLATNÉM, OBJEDNÁVKY, PRODEJ JEDNOTLIVÝCH ČÍSEL A INZERCE/INFORMATION ADS: Sekretariát ČSCH, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel/fax +420 222 220 184, e-mail: chem.spol@csvts.cz, chem.ekonom@csvts.cz • PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL: <http://chemicke-listy.vscht.cz> • TISK: České Tiskárny, s.r.o., Ráby 14, 533 52 Staré Hradiště; SAZBA, ZLOM: ČSCH, Chemické listy • Copyright © 2007 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 147 Kč, roční plně předplatné 2007 (12 čísel) 1512 Kč, individuální členské předplatné pro členy ČSCH 756 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 80 EUR (doručování via SCHS), individuální členské předplatné pro členy ČSCH 60 EUR (doručování via SCHS), 225 EUR (individuální doručování) • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG; Annual subscription for 2006 (12 issues) 225 EUR • This journal has been registered with the Copyright Clearance Center, 2322 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923, USA, where the consent and conditions can be obtained for copying the articles for personal or internal use • Pokyny pro autory najdete v čísle 1/2002 a na internetu, zkratky časopisů v čísle 10/97 na str. 911 • Chemické listy obsahující Bulletin jsou zasílány zdarma všem individuálním a kolektivním členům ČSCH a ČSPCH v ČR i zahraničí, do všech relevantních knihoven v ČR a významným představitelům české chemie a chemického průmyslu; v rámci dohod o spolupráci i členům dalších odborných společností • Dáno do tisku 21.6.2007.