

Několik vět před úvodníkem

V celé historii Chemických listů je poprvé číslo 10/2001 věnováno vztahu mezi chemií a zemědělstvím. Zemědělské velkovýroby, jejichž produkce by měla pokrýt v ČR spotřebu potravin pro 10 milionů lidí, se dnes bez chemie neobejdou. Především se jedná o sledování bezpečnosti potravin, o monitoring půdy a vody, vývoj stimulatorů růstu do krmných směsí, používání biologicky aktivních látek pro zvýšení výnosů obilovin, vliv různých druhů záření na chemické struktury semen, vývoj geneticky modifikovaných potravin atd. S řešením těchto problémů je na druhé straně spojen i rychlý vývoj odpovídajících fyzikálně-chemických metodik, syntetických postupů a jejich validací. Smyslem právě předloženého monotematického čísla Chemických listů je ukázat především odborné veřejnosti současně široké spektrum aplikačních možností chemie v zemědělství. Pokud se časopis dostane do ruky i lai-

kům, snad je byt jen letmý pohled utvrdí v přesvědčení, že správně aplikovaná chemie zemědělství pomáhá, a nikoliv škodí.

Projekt vydání tohoto monotematického čísla Chemických listů byl podpořen Ministerstvem zemědělství ČR. Autorsky do čísla přispěli jak odborníci z chemických a zemědělských vysokých škol, tak specialisté z ministerstva a jeho rezortních ústavů. K naší radosti zájem publikovat v tomto čísle značně převyšil jeho rozsah, což svědčí o aktuálnosti zvoleného tématu. Zemědělskou tematikou se v Chemických listech budeme zabývat i nadále, takže všechny došlé články postupně uveřejníme.

Náš dík patří všem, kteří se zasloužili o vydání tohoto čísla.

Vilím Šimánek
Bohumil Kratochvíl



Chemie v zemědělství

Chemické látky využívané v zemědělské výrobě lze rozdělit do několika základních skupin. Je to jednak velice široká škála hnojiv, tedy přípravků sloužících zejména výživě zemědělských plodin, a dále ještě daleko početnější skupina chemických přípravků na ochranu rostlin. Nezanedbatelnou skupinu tvoří přípravky používané v živočišné výrobě. Lze bez nadsázky konstatovat, že předpokladem úspěšného intenzivního zemědělského hospodaření je také racionální využívání všech těchto zmíněných chemických látek.

Vyvážená výživa rostlin je podmínkou k zabezpečení rostlinné výroby z hlediska množství a kvality. V roce 1986 bylo dosaženo maxima spotřeby minerálních hnojiv, a to 250 kg čistých živin NPK na hektar zemědělské půdy. Proces privatizace, transformace a restrukturalizace zemědělství po roce 1989, kdy hospodářství přešlo z centrálně řízeného na tržní, způsobil výrazný nepoměr mezi cenami vstupů a výstupů. Toto byl jeden z důvodů, proč výrazně klesla spotřeba minerálních a vápenatých hnojiv. V roce 2000 činila spotřeba NPK 75,9 kg čistých živin. U vápenatých hnojiv nastal ještě výraznější pokles spotřeby, která v současnosti stagnuje na cca 15 %, vztaheno k roku 1989, a existuje zde tím pádem hrozba zvyšování kyselosti půd. Tento trend není nikterak příznivý, neboť úloha jednotlivých prvků výživy rostlin je nezastupitelná. Optimální výživa dusíkem stimuluje výkonnost asimilačního aparátu, což má za následek efektivnější využití živin v půdě, včetně mikroelementů, a také omezení ztrát živin z půdy, ať do vzduchu, či do vody. V posledních letech dochází k rozvoji

nových způsobů používání hnojiv. Je všeobecně známo, že úroveň zásoby živin v rámci jednoho honu značně kolísá. Systém lokálně cíleného hnojení, neboli hnojení s místně proměnlivým dávkováním, je založen na využití souboru dat geograficky orientovaného informačního systému GIS. Tato data jsou sbírána a následně využívána systémem družicové navigace GPS. Úhrada živin exportovaných z půd a dosažení potřebného výnosu a kvality produkce při zachování půdní úrodnosti je klíčovým úkolem nejbližšího období s ohledem na ekonomiku rostlinné výroby a současnou i budoucí konkurenceschopnost našeho zemědělství.

Také chemické přípravky na ochranu rostlin mají v přes- tebních technologiích své nezastupitelné místo. Důraz je kladen na integrovanou ochranu, při které jsou chemické přípravky na ochranu rostlin používány jen v nutných případech. Množství spotřebovaných přípravků je stabilizované a odchylky ve spotřebě insekticidů a fungicidů, které souvisí se změnou spektra chorob a škůdců, jsou způsobeny zejména klimatickými vlivy nebo nárůstem ploch některých plodin. Průměrná spotřeba účinných látek, pesticidů dosahovala v roce 2000 1 kg na 1 hektar, přičemž toto množství je ve srovnání s větší- nou zemí v EU výrazně nižší.

Z herbicidů se nejvíce využívají širokospektrální přípravky, značně roste využívání regulátorů rostlin a spotřeba rodenticidů kopíruje výskyt hraboše polního. Výsledným efektem snížení spotřeby přípravků na moření osiv byl nárůst výskytu snětí a snížení kvality zrnin. U většiny plodin byla chemická

ochrana využita na každém hektaru s porostem 1–3×. Nejin-
tenzivněji ošetřovanými plodinami zůstávají vinná réva a chmel.

Pro krmení a výživu hospodářských zvířat se kromě
základních krmných surovin (obilovin, luštěnin, živočišných
mouček, úsušků pícnin) používají i různé chemické látky,
přidávané do krmiv za účelem zvýšení jejich jakosti. Jedná se
o látky vytvořené uměle i o syntetické produkty odpovídající
přírozeně se vyskytujícím sloučeninám. Jako příklady použití
chemických látek v živočišné výrobě lze uvést:

- různé dusíkaté sloučeniny nebiřkovinné povahy (např. mo-
čovina a její deriváty, hydroxyanaloga aminokyselin,
amonné soli některých kyselin) pro zvýšení obsahu du-
síkatých látek,
- různá antikokcidika (např. amprolium, diclazuril, halofu-
ginon, lasalocid, nifursol) pro plošnou prevenci kokcidió-
zy drůbeže,
- různé antioxidanty (např. butylhydroxytoluen, butylhydro-
xyanisol, ethoxyquin) pro stabilizaci oxidolabilních složek
(vitamínů, tuků) v krmivech,
- různá zchutňovadla (např. sacharin, neohesperidin) pro
zvýšení chutnosti krmiva,
- různá barviva (např. astaxantin, zeaxantin, kantaxantin
a jiné látky povolené pro barvení potravin) pro vybarvení
vaječných žloutků,

- různé konzervanty (např. formaldehyd, NaNO_2 , H_2SO_4 ,
soli organických kyselin) pro zamezení nežádoucích pro-
cesů jako jsou kvašení a hnití způsobené mikroorganismy,
kvasinkami či plísněmi,
- různé vitamíny (např. vitamín A – retinol, vitamín E –
tokoferol, vitamíny D – kalciferoly) synteticky vyrobené
a aplikované pro doplnění potřebné hladiny v krmivu,
- různé stopové prvky (např. jod, kobalt, mangan, měď,
molybden, selen, zinek a železo) pro doplnění jejich po-
třebné hladiny, většinou jsou používány hydrátové formy
solí těchto kovů.

Především v posledních letech však nastává ústup od
umělých chemických látek a od anorganických sloučenin mi-
kroprvků a nastupují přírozeně se vyskytující látky (enzymy,
mikroorganismy, rostlinné extrakty) a sloučeniny mikroprvků
s organickými kyselinami (octany, citronany) a aminokyselini-
nami (cheláty).

Na základě shora uvedeného lze uzavřít, že v České re-
publice jsou chemické látky využívány racionálně s cílem
dosáhnout co nejvyšší efektivity. Toto je podpořeno poznat-
ky z dlouhodobého výzkumu a také novým legislativním rám-
cem, který byl v posledních letech na tomto úseku vytvořen.

Michaela Budňáková

BRASSINOSTEROIDY

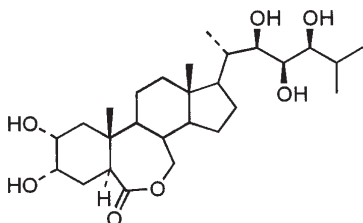
LADISLAV KOHOUT

Ústav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6

Došlo dne 12.IV.2001

Klíčová slova: brassinosteroidy

Rostlinné hormony (fytohormony) jsou látky, které po rostlinném organismu roznášejí signál vyvolávající fyziologickou odpověď (odezvu). V posledních letech se užívá spíše pojem regulátory růstu rostlin. Brassinosteroidy představují jeden z typů regulátorů růstu rostlin. Prvním brassinosteroidem izolovaným z rostlinného materiálu byl brassinolid [(22*R*,23*R*,24*S*)-2 α ,3 α ,22,23-tetrahydroxy-24-methyl-7 α -homo-7-oxa-5 α -cholestan-6-on].



Byl pojmenován podle rostliny, z jejíhož pylu byl poprvé izolován – *Brassica napus* (řepka). Tato sloučenina se však nevyskytuje jenom v této jedné rostlině. Brassinolid byl izolován z mnoha rostlinných druhů, např. kaštanu, čajovníku, slunečnice, borovice, rýže, olše, fazole, mořských řas, je přítomen i ve včelím medu atd. Bylo prokázáno, že brassinolid u rostlin zvyšuje počet buněk a prodlužuje je. Z makropohledu se tento vliv projevuje zvětšením množství zelené hmoty, suché hmoty, zvýšením počtu nasazených květů, zvýšením jak množství tak velikostí plodů atd. Jeho účinek je pozorovatelný již při aplikaci množství $4 \cdot 10^{-12}$ g na jednu rostlinu. Při počtu 250 rostlin na 1 m^2 to znamená $1 \cdot 10^{-5}$ g na hektar. Maximální účinek je však při asi 1000 \times vyšším množství, tj. kolem 0,01 g na ha.

V poslední době se začíná studovat protistresový účinek brassinolidu, který se projevuje zvýšenou odolností rostlin proti stresu, kterému je rostlina vystavena, například působení herbicidu, chladu, sucha, nedostatku živin apod.

Brassinolid je však i při své vysoké účinnosti velmi drahý.

V přírodních materiálech je obsažen ve velmi malém množství (nejvíce v pylu řepky, 0,1 ppm). Synteticky je obtížně přístupný. Proto se používají jeho analoga, brassinosteroidy. Brassinosteroidy jsou dnes považovány za podstatné pro vývoj rostliny. Nejsou-li přítomny, rostlina nemůže žít.

Problémy, které se dnes v této oblasti řeší, se dotýkají několika oborů. V chemii se studuje syntéza a vzájemný vztah mezi strukturou a aktivitou. Biologie studuje vztah mezi brassinosteroidy a dalšími rostlinnými hormony, pokouší se také objasnit, jaké změny brassinosteroidy vyvolávají v rostlinném organismu, zabývá se i mechanismem účinku. Rovněž genetika studuje mechanismus; nejvíce se pracuje na huseníčku (*Arabidopsis thaliana*), u kterého se podařilo pozměnit jeden z genů tak, že pozměněná rostlina není schopna syntetizovat brassinolid. Na zemědělských pracovištích se pak hledá nejlepší způsob aplikace v závislosti na typu rostliny, stadiu jejího vývoje a vnějších podmínkách (zvláště stresových: sucho, chlad, pesticidy, sůl).

Brassinosteroidy se zabýváme i v Ústavu organické chemie a biochemie Akademie věd České republiky. Jedním z řešených problémů je vztah mezi strukturou a aktivitou. Naše řešení je založeno na dvou přístupech. První spočívá v tom, že ne všechny strukturální rysy přírodního brassinolidu jsou nutné pro vysokou biologickou aktivitu. Podstatou druhého je to, že vzhledem k velmi vysoké účinnosti, ale současně obtížné syntetizovatelnosti brassinolidu, by byla výhodnou taková sloučenina, která by mohla být i méně účinná, ale přitom levnější než brassinolid. Pak by se jí sice používalo více, ale přesto by celková cena klesla.

Na základě těchto úvah se nám skutečně podařilo syntetizovat některé vysoce aktivní sloučeniny. Syntetizovali jsme dokonce i první sloučeninu s opačnou aktivitou, tj. látku typu brassinosteroidů, která brzdí růst rostlin. Tento zdánlivě neúčinný poznatek je velmi významný pro pochopení vztahu mezi chemickou strukturou a biologickým účinkem brassinosteroidů.

Druhým problémem, kterým se zabýváme, je izolace brassinosteroidního receptoru z rostlin. Úspěch v této izolaci by byl významný jak pro studium mechanismu účinku brassinosteroidů v rostlinách, tak pro testování aktivity syntetizovaných nových sloučenin.

Třetí problém, který studujeme, je protistresová aktivita. Toto studium je teprve na počátku. V ÚOCHB AV ČR byl vyvinut nový test stanovení protistresové aktivity. Jak jsem se již zmínil, účinky brassinosteroidů lze rozdělit na účinky podporující růst rostlin a na protistresové účinky. Oba tyto účinky jsou enormně důležité. První může ovlivnit kvalitu a kvantitu rostlin, druhý pak kvalitu životního prostředí. Oba tyto účinky pro náš život potřebujeme.

SLEDOVÁNÍ A VYHODNOCOVÁNÍ PŮDNÍCH VLASTNOSTÍ A VSTUPŮ LÁTEK DO PŮDY

MILAN SÁŇKA

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Brno, Hroznová 2, 656 06 Brno
e-mail: milan.sanka@oapvr.zeus.cz

Došlo dne 9. VIII.2001

Klíčová slova: půdní vlastnosti, kontaminace půd, vstupy do půdy, depozice, kaly z čistíren odpadních vod

Úvod

Za účelem zabezpečení zdravotně nezávadné zemědělské produkce a současně jako podpora pro zabezpečování plnění produkčních i ekologických funkcí zemědělských ekosystémů provádí Ministerstvo zemědělství ČR sledování kvality půdy a vstupů látek do půdy. K tomuto účelu jsou Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským (ÚKZÚZ) realizovány programy monitoringu zemědělských půd, monitoringu atmosférické depozice, registru kontaminovaných ploch a kontroly kalů z čistíren odpadních vod (ČOV).

Cíle

Bazální monitoring půd

- Poskytování informací o stavu a vývoji základních produkčních a ekologických vlastností půd pro orgány státní správy. Tyto informace slouží především jako soubor referenčních hodnot pro posuzování výsledků dalších šetření.

Tabulka I

Specifikace využití výsledků registru ve státní správě i nestátních organizacích

Instituce	Forma dat	Způsob využití
MŽP, MZe	komplexní databáze (.dbf soubor) za celou ČR s průběžným doplňováním, grafické výstupy po regionech	podklady pro legislativu, přehled o stavu kontaminace ZPF, rozhodování ve státní správě na úrovni ministerstva
Okresní úřady	komplexní databáze (.dbf soubor) za příslušný okres	rozhodování ve státní správě na úrovni okresu, zanesení jako vrstva do GIS území okresu, propojení s vrstvou KN, grafické výstupy v měřítku, vztah k parcelám KN
ÚKZÚZ	komplexní, průběžně aktualizovaná databáze za celou ČR ve formě .dbf souboru a databáze GIS	vedení a aktualizace databáze, poskytování dat, statistické zpracování dat, výstupy v GIS na úrovni regionů a celého území ČR, výzkum
Jiné subjekty státní	poskytování dat v rozsahu a struktuře podle dohody	podkladové materiály pro řešení výzkumných úkolů a grantů, případně i projektů na zakázku
Jiné subjekty soukromé	poskytování dat v rozsahu a struktuře podle dohody	podkladové materiály pro cílené studie typu EIA a RA, případně využití v rámci úkolů grantových agentur

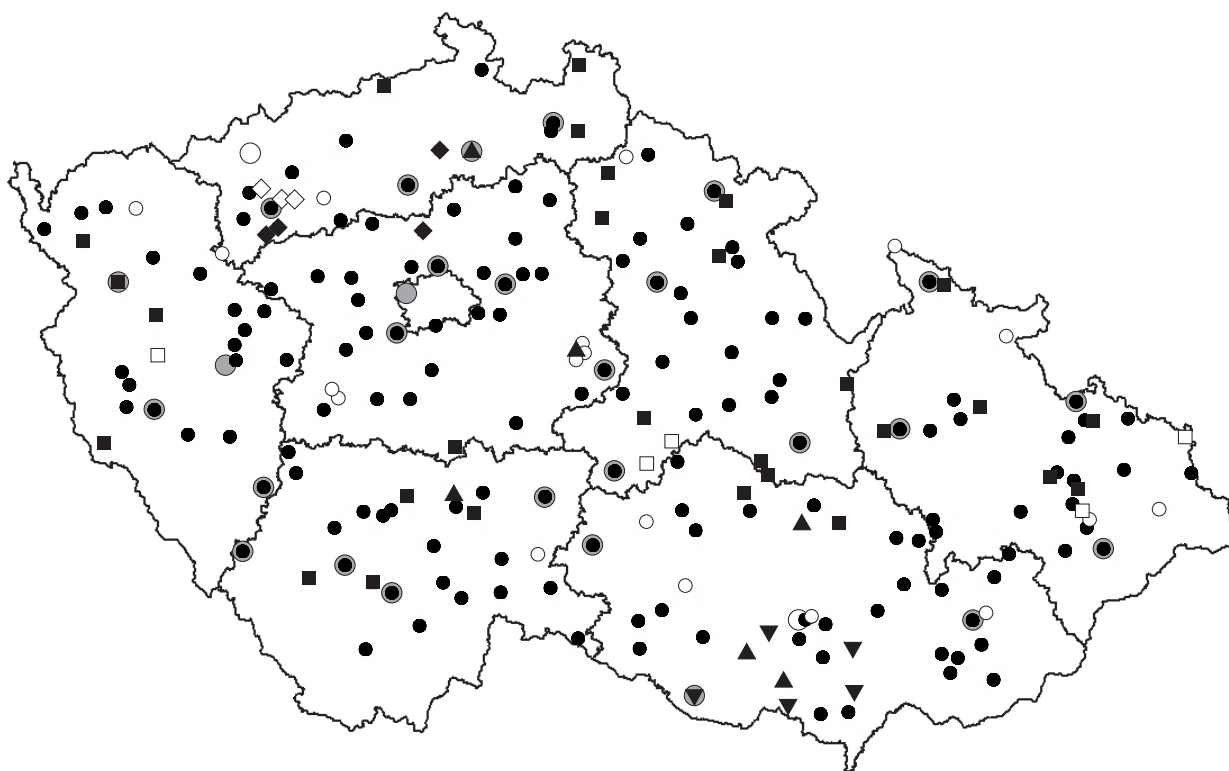
- V subsystému kontaminovaných ploch jsou vyhodnocovány příčiny kontaminace půd a sledována rizika přestupů potenciálně toxických látek do zemědělské produkce.
- Na úrovni ÚKZÚZ, MZe a MŽP je systém monitoringu navázán na zahraniční systémy monitoringů, slouží k prezentaci výsledků na mezinárodní úrovni a spolupráci se zahraničními odborníky (vazba zejména na Německo, Slovensko, Švýcarsko, Rakousko, Maďarsko).
- Výsledky jsou vyhodnocovány za účelem poskytování materiálů pro ročenky a statistické přehledy.
- Program zabezpečuje materiál pro ústavní, národní i mezinárodní laboratorní kruhové testy a ověřování analytických metod.

Registr kontaminovaných ploch

- Vytvoření a doplňování celoplošné databáze charakterizující stav kontaminace zemědělských půd rizikovými prvky.
- Na úrovni MZe a MŽP slouží výsledky jako podkladové materiály k přípravě legislativních opatření.
- Poskytování referenčních dat k vyhodnocování výsledků cílených průzkumů.
Podrobnější specifikaci využití výsledků databáze registru uvádí tabulka I.

Monitoring atmosférické depozice

- Bilancování látek v agroekosystémech: hodnocení emisí z hlediska vstupů rizikových látek do půdy, vytvoření národní sítě a poskytování referenčních hodnot.
- V návaznosti na monitoring půd je hodnocen vliv emisí na zemědělskou produkci.
- Systém poskytuje podklady pro odvozování emisních limitů a kritických zátěží půd.
- Prvotní data jsou poskytována k dalšímu využití.



Obr. 1. Lokalizace pozorovacích ploch bazálního monitoringu zemědělských půd; základní subsystém: ● orná půda, ■ trvalé travní porosty, ▲ sady, ◆ vinice, ▼ chmelnice; subsystém kontaminovaných ploch: ○ orná půda, □ trvalé travní porosty, ◇ chmelnice, ● plochy monitoringu atmosférické depozice

Kontrola kalů ČOV

- Výsledky inventarizace obsahů rizikových látek v kalech nejvýznamnějších ČOV v celostátním měřítku jsou využívány pro odpadové hospodářství na úrovni okresu.
- V návaznosti na programy monitoringu půd a atmosférické depozice je prováděno bilancování látek a hodnocení vstupů rizikových látek do půdy prostřednictvím aplikace kalů z ČOV.
- V návaznosti na registr kontaminovaných ploch byla v roce 1997 zahájena postupná tvorba databáze pozemků se zvýšenými hodnotami obsahů rizikových látek vlivem aplikací kalů z ČOV. Tato databáze bude sloužit k hodnocení rizik na konkrétních pozemcích, kde byly kaly aplikovány.
- Výsledky inventarizace byly přímo využity pro přípravu prováděcí vyhlášky k zákonu o odpadech (využití odpadů v zemědělství).

Metodické přístupy

Bazální monitoring půd

Soubor pozorovacích ploch bazálního monitoringu zemědělských půd je v provozu od roku 1992, kdy byl proveden první odběr vzorků v základní síti 200 pozorovacích ploch. V roce 1995 byl odběr zopakován za použití optimalizované metodiky terénních prací. V roce 1996 byl založen soubor 27

pozorovacích ploch na různým způsobem kontaminovaných půdách, především za účelem sledování chování kontaminantů v půdě a cest jejich přestupů do potravního řetězce – s ohledem na zdroj kontaminace.

Lokalizace pozorovacích ploch monitoringu půd včetně pozorovacích ploch, na kterých se sleduje atmosférická depozice, je na obrázku 1.

Pozorovací plocha je definována jako obdélník 40×25 m, tj. 1000 m². Poloha ploch je fixována pevnými terénními body a zaznamenána zeměpisnými souřadnicemi. Z každé plochy jsou odebírány čtyři směšné vzorky půdy z ornice a z podorničí po úhlopříčkách pozorovací plochy (u trvalých travních porostů ze tří horizontů). Základní perioda odběru je 6 let, vybrané parametry se sledují v jednoletých intervalech. U každé pozorovací plochy je vykopána a popsána pedologická sonda a jsou odebrány a analyzovány vzorky z diagnostických horizontů.

V systému monitoringu jsou prováděny tyto analýzy (skupiny analýz)

- soubor fyzikálních charakteristik,
- aktivní a výměnná půdní reakce,
- obsah přístupných živin – P, K, Mg stanovený různými metodami,
- obsah mikroelementů (B, Mo, Mn, Zn, Cu),
- sorpční kapacita (S, T, V),
- obsah organické hmoty (C_{ox}),
- obsah rizikových prvků (Pb, Cr, Cd, Hg, V, Be, Ni, Co, Cu, Zn) ve výluhu 2 M-HNO₃, dále po rozkladu lučavkou

- královskou a celkový obsah extrakcí směsí minerálních kyselin,
- obsah organických kontaminantů,
- obsahy rizikových prvků v rostlinách na vybraném souboru pozorovacích ploch,
- vybrané vlastnosti mikrobiální biomasy.

Registr kontaminovaných ploch

Základem vedení seznamu kontaminovaných pozemků je databáze vytvořená z výsledků analýz vzorků na obsahy rizikových prvků, které byly odebrány v letech 1990–1993 v rámci programu agrochemického zkoušení půd. Databáze je pracovním názvem „registr kontaminovaných ploch“ a je postupně doplňována v souladu s požadavky MZe. Databáze obsahuje tyto analytické údaje:

- pH – výměnné pH stanovené ve výluhu KCl s měřením iontově selektivní elektrodou,
- rizikové prvky (As, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mo, Ni, Pb, V, Zn) – stanoveny metodou AAS nebo ICP ve výluhu 2 M-HNO₃,
- rtuť – analýza celkového obsahu analyzátořem TMA.

Podle dispozic MZe mohou být stanoveny další anorganické i organické kontaminanty.

Lokality odběru směsných vzorků ze základního průzkumu byly postupně digitalizovány v souřadnicích JTSC a postupně probíhá digitalizace doplňujících odběrů. K souřadnicím jsou připojeny výsledky analýz.

Monitoring atmosférické depozice

Atmosférická depozice je sledována metodou „bulk“ pomocí záchytné a sběrné nádoby. Každé stanoviště je osazeno třemi soupravami, z každé soupravy se zachycený depozit analyzuje individuálně.

Měsíčně se ve vzorcích spadů stanovuje obsah dusičnanového a amoniakálního dusíku, chloridů a síranů. Zbývající část vzorku se odpaří do sucha a použije pro stanovení odparku. Po šesti měsících se souhrnný odparek použije pro stanovení celkových obsahů fosforu, draslíku, vápníku, hořčíku, sodíku, síry, hliníku, železa, mědi, zinku, niklu, arsenu, kadmia, olova, chromu, kobaltu, vanadu a beryllia.

Sledování probíhá od roku 1992, kdy byla metoda ověřena na 32 pozorovacích plochách bazálního monitoringu půd. V následujících sezónách 1993–1995 byly nádoby pro sběr spadů umístěny paralelně na 100 pozorovacích plochách monitoringu zemědělských půd. V říjnu 1996 došlo k propojení monitorizačních sítí pro sledování atmosférické depozice v rámci tří ústavů resortu Ministerstva zemědělství za současného zdokonalení metodiky. Společná síť byla tvořena 160 pozorovacími plochami, z čehož cca 60 ploch bylo totožných s plochami monitoringu půd. Od 1.4.1999 došlo opět k redukci sítě na 30 pozorovacích ploch v základním systému monitoringu a na 15 pozorovacích ploch na kontaminovaných plochách.

Kontrola kalů z ČOV

ÚKZÚZ – odbor APVR sleduje každoročně cca 200 ČOV veřejných kanalizací na území celé ČR. Regionální pracovníci oddělení agroekologie odebrávají na jednotlivých ČOV v prů-

běhu roku 1–4 vzorky kalů, které se v laboratořích ÚKZÚZ analyzují na rizikové prvky. Sledován je obsah olova, kadmia, chromu, rtuti, niklu, mědi, molybdenu a arsenu. Obsahy jednotlivých prvků jsou hodnoceny podle ČSN 46 5735 jako surovina pro průmyslové komposty. Kontrola je zaměřena především na ty ČOV, u nichž je předpoklad, že určitá část produkce kalů je směřována v konečné fázi na zemědělskou půdu. U vytypovaných čistíren s vyšší produkcí se navíc stanovuje obsah hlavních živin, pH, obsah organické hmoty, obsah PCB, PAH a AOX.

Od roku 1998 jsou v rámci projektu prováděny odběry kontrolních vzorků půd z ploch, na které byly aplikovány odpadní kaly (v souladu s vedením registru kontaminovaných ploch). V těchto vzorcích se analyzují obsahy rizikových prvků ve výluhu 2 M-HNO₃ a ve výluhu lučavkou.

Výstupy

Bazální monitoring půd

Rizikové prvky

Dosavadní šetření bazálního monitoringu zemědělských půd umožňují srovnání výsledků dvou period odběru – 1995 a 1998 pro oba používané výluhy (tabulka II, III). Rozdíly mezi periodami šetření nejsou statisticky průkazné. U Cd a Pb se potvrdil statisticky významně vyšší obsah v ornici než v podornici.

Obsahy prvků a jejich rozsah jsou v souladu s výsledky plošného šetření pro registr kontaminovaných ploch a je možno považovat je v tomto směru za objektivní charakteristiku zemědělských půd ve standardních podmínkách (zahrnujících plošnou úroveň kontaminace).

Organické polutanty

Na 35 pozorovacích plochách na zemědělské půdě a na 5 plochách na nenarušené půdě v chráněných územích je sledován stav a vývoj obsahů polyaromatických uhlovodíků (16) a polychlorovaných bifenyly (6 kongenerů, do roku 1998 3 kongenerů).

Průměr požadových obsahů tří kongenerů polychlorovaných bifenyly za dobu sledování se pohybuje v ornici mezi 1 a 7 μg.kg⁻¹, v podornici jsou obsahy o polovinu až třetinu nižší (tabulka IV). Ve srovnávaných chráněných územích byly obsahy PCB v půdě na hranici limitu stanovitelnosti, vliv přenosu atmosférou na kontaminaci půdy je u těchto látek pravděpodobně minimální. V průběhu pětiletého sledování nelze specifikovat trend růstu nebo poklesu.

U polyaromatických uhlovodíků nedošlo v roce 1998 k významným změnám obsahů v půdě (ornici i podornici) v porovnání s rokem 1997 (tabulka V). Nálezy PAH v nenarušených půdách chráněných území, zejména ve vyšších polohách, dokumentují vliv dálkového přenosu na plošnou distribuci.

Perzistentní organochlorové pesticidy nejsou již v zemědělství používány, avšak v zemědělských půdách jsou stále nacházeny. Výsledky čtyřletého sledování jsou uvedeny v tabulce VI. V posledním roce sledování byly vzorkovány jiné pozorovací plochy bazálního monitoringu půd, což se projevilo v rozdílných charakteristikách. Celkově nelze potvrdit

Tabulka II

Popisná statistika obsahů rizikových prvků v ornících (O) a podorničích (P) ve výluhu lučavkou na plochách monitoringu půd ze šetření 1992 a 1995; $n = 195$, hodnoty v $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$

Prvek		1992				1995			
		hor.	g. Ø	med.	min.	max.	g. Ø	med.	min.
Be	O	1,14	1,16	0,27	4,02	1,24	1,25	0,53	3,55
	P	1,22	1,25	0,20	3,52	1,31	1,33	0,44	3,52
Cd	O	0,25	0,28	0,12	5,94	0,27	0,27	0,05	4,21
	P	0,16	0,12	0,12	4,89	0,18	0,18	0,05	4,57
Cr	O	38,10	38,50	11,40	433,90	34,57	34,40	10,20	535,70
	P	38,85	39,50	6,20	525,70	36,26	36,60	7,70	556,70
Co	O	11,92	12,40	2,30	45,60	9,56	9,80	1,90	30,10
	P	12,47	12,70	2,60	57,10	10,08	10,30	1,70	42,40
Cu	O	19,35	19,80	5,60	92,70	17,88	18,80	4,20	98,40
	P	17,73	18,90	4,20	64,40	16,74	17,20	2,50	63,10
Ni	O	22,65	23,90	5,90	173,00	19,78	21,90	4,70	255,60
	P	24,95	26,50	5,30	236,10	21,52	23,20	3,50	270,50
Pb	O	25,90	24,90	7,10	237,40	20,63	20,40	7,30	169,00
	P	19,20	18,90	5,30	244,10	15,58	15,40	3,10	161,00
V	O	48,99	49,10	15,70	275,10	42,07	41,50	13,80	193,90
	P	49,95	49,80	10,30	251,00	44,25	43,70	9,40	195,50
Zn	O	79,48	78,20	25,90	718,20	63,03	62,00	19,00	558,70
	P	72,58	73,90	26,10	568,20	58,53	8,90	6,20	580,50

Tabulka III

Popisná statistika obsahů rizikových prvků v ornících (O) a podorničích (P) ve výluhu 2 M-HNO₃ na plochách monitoringu půd ze šetření 1992 a 1995; $n = 195$, hodnoty v $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$

Prvek		1992				1995			
		hor.	g. Ø	med.	min.	max.	g. Ø	med.	min.
Be	O	0,24	0,25	0,05	0,91	0,44	0,44	0,11	1,70
	P	0,24	0,25	0,05	0,85	0,43	0,44	0,11	1,45
Cd	O	0,22	0,21	0,07	3,64	0,20	0,19	0,05	4,75
	P	0,12	0,11	0,05	3,09	0,10	0,11	0,04	4,82
Cr	O	5,50	5,14	1,75	41,30	6,20	5,78	1,05	64,16
	P	5,07	4,92	0,54	35,41	5,92	5,58	1,05	53,08
Co	O	4,69	5,04	0,19	13,87	4,78	4,95	0,70	15,75
	P	4,22	4,49	0,35	11,99	4,52	4,80	0,63	18,48
Cu	O	7,79	7,49	2,02	67,65	7,45	7,25	2,09	81,06
	P	5,47	5,55	0,90	29,02	5,66	5,36	1,23	45,55
Ni	O	4,34	4,44	0,80	22,41	4,91	5,09	0,65	24,77
	P	3,87	4,14	0,80	22,65	4,62	5,29	0,65	27,66
Pb	O	15,79	14,93	5,67	77,66	16,10	15,71	5,27	119,68
	P	10,76	11,16	1,76	47,69	11,32	11,16	3,45	111,37
V	O	8,73	8,92	2,92	35,51	10,39	9,97	3,10	47,61
	P	7,17	7,23	1,33	30,18	9,02	8,53	1,92	41,02
Zn	O	16,53	15,15	6,28	301,38	18,80	17,98	6,78	463,43
	P	12,33	11,59	1,71	247,66	14,62	13,93	1,63	462,00

Tabulka IV

Mediány a aritmetické průměry a maxima obsahů sumy PCB v ornících a podorničích na vybraných 40 pozorovacích plochách monitoringu za šest let sledování (1994–2000)

Parametr	Σ 3 kongenerů (138, 153, 180)							Σ 6 kongenerů (28, 52, 101, 138, 153, 180)		
	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	1998	1999	2000
Ornice ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ suchého vzorku)										
Medián	1,20	0,00	0,00	0,60	1,50	1,43	0,75	2,60	2,43	1,50
Průměr	2,26	0,64	1,35	7,60	3,66	3,65	5,91	4,80	4,79	7,00
Max.	31,70	5,50	18,50	147,50	31,50	51,80	74,05	33,65	54,30	82,20
Podorničí ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ suchého vzorku)										
Medián	0,70	0,00	0,00	0,60	0,75	0,98	0,75	1,50	1,90	1,50
Průměr	1,26	0,89	0,44	3,18	2,42	2,20	2,50	3,33	3,22	3,30
Max.	11,80	32,41	5,10	32,00	30,20	31,95	27,73	32,05	35,30	28,91

Tabulka V

Základní statistické charakteristiky sumy 15 PAH v ornici (O) a podorničích (P) orných půd na vybraných 40 pozorovacích plochách monitoringu; srovnání let 1997–2000 ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)

Parametr	1997		1998		1999		2000	
	O	P	O	P	O	P	O	P
Arit. průměr	986,3	433,3	693,6	454,5	928,6	642,5	1 066,6	591,7
Medián	667,4	322,8	583,7	306,3	558,4	276,1	594,6	256,7
Min.	155,8	53,8	60,5	97,8	101,9	87,0	164,8	99,9
Max.	6 085,1	1 185,4	2 410,5	2 285,8	9 488,8	7 081,3	6 834,1	3 519,2

Tabulka VI

Základní statistické charakteristiky obsahů sledovaných organochlorových pesticidů v ornících a podorničí orných půd v roce 2000 ($\mu\text{g.kg}^{-1}$ sušiny)

Parametr	HCB	DDEo, p'	DDEp, p'	DDDo, p'	DDDp, p'	DDTo, p'	DDTp, p'
Ornice							
Arit. průměr	2,26	1,60	24,6	1,65	4,61	35,7	81,3
Medián	1,74	<1	5,83	<1	1,35	12,2	53,5
Min.	<1	<1	<1	<1	<1	<10	<10
Max.	9,94	25,7	388	18,5	40,2	369	467
Podorničí							
Arit. průměr	1,59	1,05	15,4	1,29	2,77	22,7	46,7
Medián	<1	<1	2,68	<1	0,87	7,50	29,5
Min.	0,36	<1	<1	<1	<1	<10	<10
Max.	17,5	11,7	274	10,1	24,0	248	285

Tabulka VII

Registr kontaminovaných ploch. Celkové počty odebraných vzorků a základní popisná statistika všech sledovaných prvků pro celé území ČR

Prvek	Celkový počet vzorků	Průměr		Medián
		aritmetický	geometrický	
Be	16 677	0,472	0,418	0,430
Cd	40 441	0,238	0,190	0,190
Co	22 310	5,602	4,993	5,000
Cr	40 452	7,100	4,978	4,600
Cu	36 209	8,531	7,295	7,100
Hg	32 477	0,105	0,082	0,080
Ni	35 123	6,042	4,665	4,700
Pb	40 478	18,647	15,499	14,900
V	20 507	10,867	9,564	9,570
Zn	36 257	19,385	16,619	16,000

Tabulka VIII

Registr kontaminovaných ploch. Počty a procenta analýz s překročením maximálně přípustných obsahů rizikových prvků podle půdního druhu (vyhl. č. 13/1994 Sb.). Celkem za všechny prvky v ČR a s rozlišením na prvky s převažující zoo- a fytotoxicitou

Prvek	Půdní druh	Analýzy		
		celkem	nadlimitní obsah	
			počet	%
Všechny prvky	lehká	47 333	1 945	4,11
	ostatní	273 598	2 009	0,73
	celkem	320 931	3 954	1,23
Zootoxicita	lehká	10 424	752	7,21
Cd, Hg, Pb	ostatní	96 960	886	0,91
	celkem	107 384	1 638	1,53
Fytotoxicita	lehká	22 207	708	3,19
Cr, Cu, Ni, Zn				

Tabulka IX

Zjištěné hodnoty obsahů rizikových prvků ve vzorcích kalů z 203 ČOV v ČR za rok 2000 (v mg.kg^{-1} suš.)

ČR	As	Cd	Cr	Cu	Hg	Mo	Ni	Pb	Zn
Průměr	13,9	2,79	193,1	241,3	3,39	4,3	41,7	113,7	1 425
Medián	8,4	2,10	57,0	190,0	3,11	4,1	34,2	75,5	1 240
Min.	0,5	0,50	11,9	16,6	0,37	0,3	3,0	7,2	179
Max.	144,0	21,00	16 725,0	2 360,0	18,80	11,0	433,0	2 410,0	12 200
Počet	329	341	341	341	341	224	340	341	337

klesající trend, který by byl způsoben degradací pesticidů v půdě.

Registr kontaminovaných ploch

Tabulky VII a VIII uvádějí sumární statistické vyhodnocení základní databáze registru.

Monitoring atmosférické depozice

U měsíčně sledovaných parametrů jsou relativně vyrovnané hodnoty u dusičnanového dusíku – řádově kolem $6 \text{ kg.ha}^{-1}.\text{rok}^{-1}$, což je indikováno i shodou mediánu s průměrem. U pololetně sledovaných parametrů je jednoznačně variabilita nižší u prvků, které nejsou výrazně ovlivňovány an-

tropogenní aktivitou (litofilní prvky – hliník, železo, draslík, hořčík).

Hodnoty atmosférické depozice jsou důležitým vstupem do agroekosystémů, a je proto nezbytné zahrnovat je do bilančování látek jak z hlediska výživářského, tak z hlediska hodnocení potenciálních rizik. Pro důležité makroprvky se roční vstupy za celé sledované období pohybují u dusíku od 13 do 54 kg.ha⁻¹.rok⁻¹, u hořčíku kolem 1 kg.ha⁻¹.rok⁻¹, u draslíku od 2 do 7 kg.ha⁻¹.rok⁻¹, u fosforu od 1 do 4 kg.ha⁻¹.rok⁻¹.

U nejvýznamnějších potenciálně rizikových prvků, kde by se měly sledovat kumulativní vstupy, se vstupy depozicí pohybují u olova kolem 30 g.ha⁻¹.rok⁻¹, u kadmia kolem 1 g.ha⁻¹.rok⁻¹, u arsenu kolem 5 g.ha⁻¹.rok⁻¹ (orientační hodnoty za celé období sledování).

Klesající trend během 90. let je možno vidět u draslíku, fosforu a síry, ale i u rizikových prvků – olova, kadmia, niklu, chromu, arsenu. Podle posledních výsledků se však tento trend zastavuje (u arsenu došlo ke zvýšení). Vzrůstající trend sledujeme u vápníku. U ostatních prvků hodnoty ročních mediánů kolísají bez zřetelného trendu.

Tabulka XI

Základní statistické charakteristiky obsahů PAH v kalech ČOV – období sledování 2000 (μg.kg⁻¹ suchého vzorku)

Parametr	NAPH	ACN	FLR	PHEN	ANT	FLU	PY	BaA	CH	BbF	BkF	BaP	DBA	BPE	IPY	Σ 15 PAH
Průměr	199	467	365	1010	448	1816	1383	669	869	1550	561	1071	157	993	976	12 534
Medián	88	229	183	582	325	1284	864	397	574	895	347	616	78	644	595	7 794
Min.	9	11	30	197	58	346	300	99	153	203	57	139	10	131	147	2 056
Max.	1 690	6 680	5 790	6 252	3 411	7 918	4 346	3 515	3 501	9 397	3 284	7 035	1 278	6 004	6 744	73 050
Počet	42	42	42	42	42	42	42	42	42	42	42	42	42	42	42	42

Seznam zkratk

GIS geografický informační systém
 ZPF zemědělský půdní fond
 KN katastr nemovitostí
 EIA posuzování vlivů na životní prostředí (Environmental Impact Assessment)

Kontrola kalů z ČOV

Sumarizované výsledky sledování jsou uvedeny v tabulkách IX–XI.

Tabulka X

Souhrnná statistika – kaly z ČOV – 172 vzorků; rok odběru 1998–2000

Parametr	Kongenery PCB [μg.kg ⁻¹]						Σ 6 kongenerů
	28	52	101	138	153	180	
Průměr	24,0	10,4	18,6	48,0	59,2	36,8	197,1
Medián	13,1	8,0	15,4	31,5	39,6	23,5	141,3
Min.	0,0	0,0	<5	<5	<5	<5	15,0
Max.	600,0	86,0	141,0	556,4	746,1	732,8	2 232,1
90 %	43,3	21,6	35,5	96,6	115,0	69,9	374,0
Počet	42	42	42	42	42	42	42

STAV ZATÍŽENÍ ZEMĚDĚLSKÝCH PŮD PERZISTENTNÍMI ORGANICKÝMI POLUTANTY

RADIM VÁCHA^a, ELIŠKA PODLEŠÁKOVÁ^a,
JAN NĚMEČEK^b a ONDŘEJ POLÁČEK^a

^aVýzkumný ústav meliorací a ochrany půdy, Žabovřeská 250, 156 27 Praha 5, ^bKatedra pedologie a geologie, Česká zemědělská univerzita, 165 21 Praha 6
e-mail: vacha@vumop.cz

Došlo dne: 8.VIII.2001

Klíčová slova: zatížení zemědělských půd, perzistentní organické polutanty

Úvod

Perzistentní organické polutanty (POP) představují nezanedbatelné riziko pro životní prostředí^{2,3}. Tato skupina polutantů zahrnuje širokou skupinu látek s různým stupněm zootoxicity, která přímo ohrožuje i lidské zdraví. Zahraniční práce definovaly zdravotně významné sloučeniny, které byly zapracovány do tzv. holandského seznamu. Ten se stal výchozím materiálem⁶ k návrhu kritických hodnot perzistentních organických polutantů pro půdy České republiky. Kromě těchto sloučenin nabývá v posledních několika letech na významu také sledování perzistentních dibenzodioxinů a dibenzofuranů a významných kongenerů PCB v životním prostředí. Primární vstupy těchto sloučenin mají původ v celé řadě průmyslových procesů, zejména pak chlorové chemii a v termických spalovacích procesech (Schulz 1993), k druhotným zdrojům kontaminace půd se řadí také čistírenské kaly¹.

Sledování stavu zatížení zemědělských půd POP bylo ve VÚMOP Praha započato v roce 1993. Výsledky šetření byly průběžně předávány MZe ČR, odboru potravinářské výroby, které je využívá při vyhodnocení zatížení potravních řetězců cizorodými látkami.

V současné době zahrnuje naše databáze výsledky více než 750 vzorků zemin z různých oblastí ČR, ve kterých byly stanoveny obsahy monoaromatických (5 sloučenin), polyaromatických (12 sloučenin) a chlorovaných uhlovodíků (PCB, HCB), rezidua pesticidů (DDT a metabolity) a nepolární extrahovatelné látky. V roce 1999 byla zahájena studie výskytu polychlorovaných dibenzodioxinů a dibenzofuranů (PCDD/F) v zemědělských půdách ČR. Odebráno a analyzováno bylo prozatím 40 vzorků zemin.

Materiál a metody

Výběr sledovaných lokalit vycházel ze stavu imisního zatížení jednotlivých regionů ČR. Práce byla zahájena v ekologicky nejrizikovějších oblastech ČR (severočeský a západočeský region, severomoravský region). Jako srovnávací soubor byly použity vzorky půd odebrané z oblastí s nízkou zátěží

imisními spady (Šumava, okres Pelhřimov). V následujících letech byl výběr sledovaných oblastí rozšířen o okresy středočeského regionu a okres Liberec na severu Čech. Vzorky jsou analyzovány v laboratořích Aquatestu Praha a.s. metodami, které jsou popsány Němečkem a spol.⁵ Sledované sloučeniny uvádí tab. I. Kromě stanovení perzistentních organických polutantů je na každé lokalitě měřen také obsah rizikových prvků (celkový obsah 13 prvků a jejich obsah ve výluhu 2 M-HNO₃) a je provedena pedologická charakteristika stanoviště (půdní typ, půdní druh, půdní reakce, obsah oxidovatelného uhlíku (C_{ox})). Výsledky jsou vyhodnoceny s využitím referenčních pozadových hodnot sledovaných POP v našich půdách⁶.

Výběr lokalit pro odběr vzorků na stanovení PCDD/F byl podmíněn nutností podchytit oblasti s předpokládanou vyšší zátěží v blízkosti průmyslových aglomerací, oblasti intenzivně zemědělsky využívané, oblasti s vyšší nadmořskou výškou v rizikových regionech, oblasti inundačních zón vodních toků a lokality, kde byly na zemědělskou půdu aplikovány kaly z ČOV. Odběrové lokality tak zahrnují celé území ČR. Ve vzorcích jsou stanoveny také obsahy dalších POP a obsahy rizikových prvků. Stanovení významných kongenerů PCDD, PCDF a PCB zajišťuje laboratoř Axys Varilab s.r.o. metodami, které popisuje Jech a spol.⁴ a které jsou dále shrnuty Podlešákovou a spol.⁸ Aktuální kongenery jsou uvedeny v tab. II. Při vyhodnocení souboru vzorků byla vypočtena suma kongenerů PCDD, PCDF a PCB a jejich toxický ekvivalent (I-TEQ).

Tabulka I
Sledované POP v zemědělských půdách

Monocyklické aromatické uhlovodíky	
benzen	ethylbenzen
toluen	styren
xyleny	
Polycyklické aromatické uhlovodíky	
fluoranthren	benzo[<i>a</i>]pyren
pyren	benzo[<i>a</i>]anthracen
benzo[<i>b</i>]fluoranthren	benzo[<i>k</i>]fluoranthren
fenanthren	benzo[<i>g,h,i</i>]perylene
indeno[<i>c,d</i>]pyren	chrysen
anthracen	naftalen
Pesticidy a jejich rezidua	
DDT	DDE
DDD	
Chlorované uhlovodíky	
HCH	PCB
HCB	
Ostatní	
nepolární extrahovatelné látky	

Tabulka II
Kongenery PCDD/F a PCB

PCDD	PCDF	PCB
2,3,7,8 TeCDD	2,3,7,8 TeCDF	PCB 77
1,2,3,7,8, PeCDD	1,2,3,7,8 PeCDF	PCB 126
1,2,3,4,7,8 HxCDD	2,3,4,7,8 PeCDF	PCB 169
1,2,3,6,7,8 HxCDD	1,2,3,4,7,8 HxCDF	PCB 105
1,2,3,7,8,9 HxCDD	1,2,3,6,7,8 HxCDF	PCB 114
1,2,3,4,6,7,8 HpCDD	1,2,3,7,8,9 HxCDF	PCB 118+123
OCDD	2,3,4,6,7,8 HxCDF	PCB 156
	1,2,3,4,6,7,8 HpCDF	PCB 157
	1,2,3,4,7,8,9 HpCDF	PCB 167
	OCDF PCB 189	
	PCB 170	
	PCB 180	

Tabulka III
Procenta případů překročení limitu kontaminace pro POP v půdách

Okres	n	PAU											
		Fl	P	Ph	B[b]F	B[a]A	A	B[a]P	I[cd]P	B[k]F	B[ghi]P	Ch	N
Ml. Boleslav	28	0	0	0	0	0	0	4	4	0	4	11	0
Nymburk	23	13	4	13	13	9	4	17	9	13	13	22	0
Liberec	26	8	4	12	12	8	8	12	4	8	8	19	0
Benešov	26	4	8	12	8	8	8	8	8	8	8	4	0
Kolín	18	22	11	17	11	11	0	11	11	11	17	22	0
Kutná Hora	26	15	0	8	0	0	0	4	0	0	8	12	0
Beroun	19	0	0	0	0	11	0	5	0	0	0	16	0
Praha-západ	12	0	0	8	0	8	0	0	0	0	0	25	0
Příbram	32	0	6	3	6	9	0	6	3	6	3	9	0
Kladno	28	0	4	0	4	7	4	4	4	4	4	4	0
Mělník	11	9	9	36	0	9	0	9	45	9	18	45	0
Praha-okolí	8	25	13	0	38	63	0	50	13	38	13	63	0
Praha	63	70	41	40	65	43	59	63	27	60	60	41	0
Referenční hodnoty		300	200	150	100	100	50	75	50	50	50	50	50

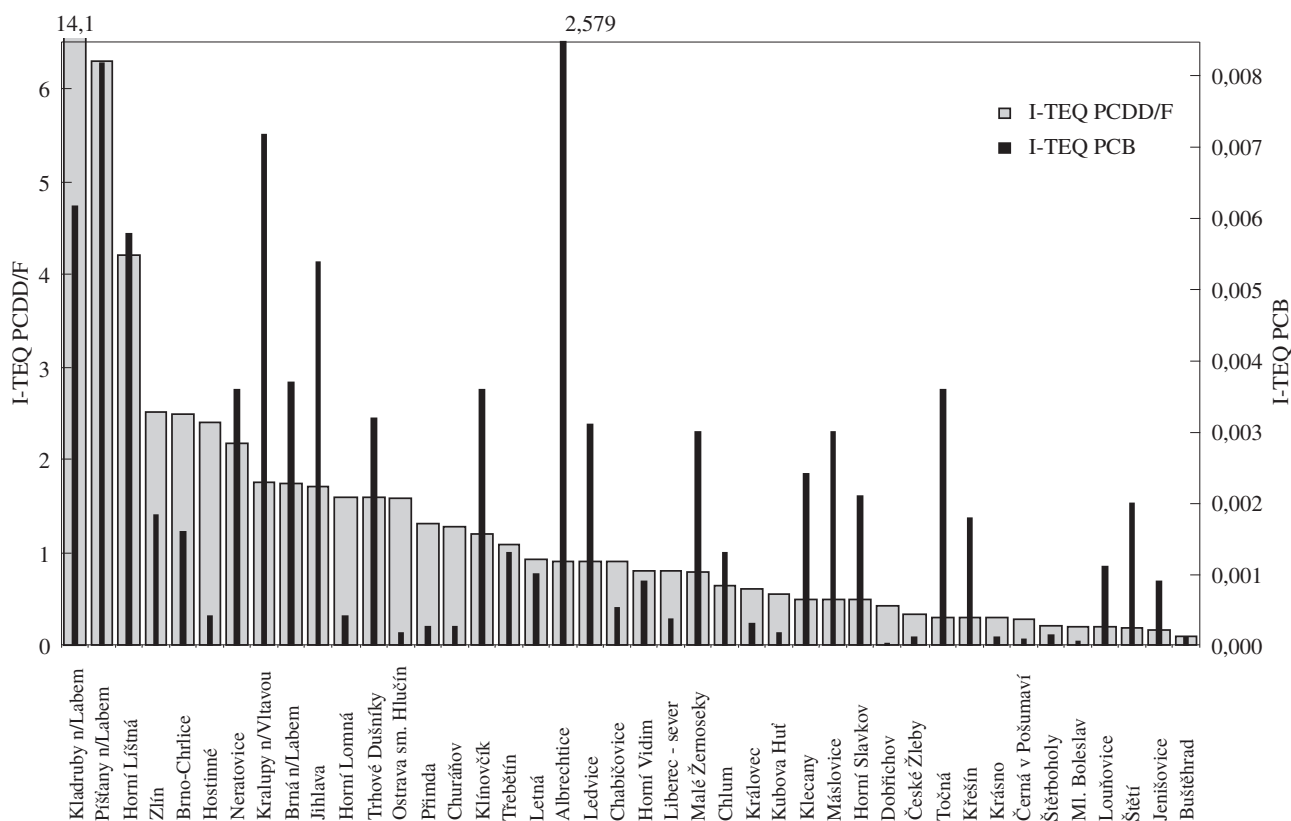
Okres	n	MAU				ChU							N.U. ^a nep.uhl.		
		B	T	X	Eb	S	PCB	HCB	DDT	DDE	DDD	α-HCH		β-HCH	γ-HCH
Ml. Boleslav	28	0	7	7	0	0	0	0	7	11	0				7
Nymburk	23	0	0	0	0	0	0	0	4	30	0				9
Liberec	26	4	0	0	0	0	0	0	8	8	4				4
Benešov	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	0	0	0	0
Kolín	18	11	17	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kutná Hora	26	0	0	0	0	0	0	0	4	0	12	0	0	0	8
Beroun	19	0	0	0	0	0	0	0	0	37	0	0	0	0	0
Praha-západ	12	0	0	0	0	0	0	0	17	58	0	0	0	0	0
Příbram	32	0	0	0	0	0	0	0	6	34	3	0	0	0	0
Kladno	28	0	0	0	0	0	25	4	25	46	0				4
Mělník	11	0	0	0	0	0	9	0	0	18	0				0
Praha-okolí	8	0	0	0	0	0	25	0	0	0	0				13
Praha	63	0	0	0	0	0	35	2	7	11	0				11
Referenční hodnoty		30	30	30	40	50	50	20	15	10	10				100

^a V mg.kg⁻¹

Výsledky a diskuse

První fáze výzkumu, která se soustředila na nejrizikovější oblasti ČR a jejich srovnání s referenčními oblastmi, byla završena v roce 1997 a zahrnovala 505 vzorků zemin. Práce je popsána a vyhodnocena Podlešákovou a spol.⁷ Další fáze sledování, která byla realizována ve středočeském regionu, byla zajímavá především výskytem velkých měst a průmyslových aglomerací (Praha, Kladno, Příbram, Kralupy nad Vltavou, Neratovice, Kolín). Okres Liberec v severních Čechách přitahuje pozornost zejména provozem spalovny odpadů.

Ze získaných výsledků vyplynulo, že předpokládané zdroje znečištění ovlivňují své okolí pouze v omezeném rozsahu. Rozdíly mezi emisními zdroji se odráží nejenom v míře znečištění, ale také v jeho struktuře, tzn. poměrem zátěže jednotlivými sloučeninami. Ve středočeském regionu se tak dá hovořit o odlišném poměru zátěže skupinami POP v jeho jednotlivých okresech. Například okres Mělník je charakteris-



Obr. 1. I-TEQ PCDD/F a I-TEQ PCB ve sledovaných lokalitách

tický zvýšeným výskytem polyaromatických uhlovodíků (PAU) v půdách, v sousedním okrese Kladno je zátěž PAU nízká, byly zde však častěji indikovány zvýšené hodnoty PCB, HCB i DDT v zemědělských půdách (tab. III). V okrese Beroun byly zjištěny případy překročení referenčních hodnot pozadí zejména u sloučenin ze skupiny PAU a monoaromatických uhlovodíků (MAU), ale i v případech PCB a HCB. V okrese Příbram byly naměřeny zvýšené hodnoty PAU a MAU. Naopak nižší zátěž PAU a MAU je charakteristická pro okresy, situované východním směrem od Prahy. Zde však byly ve více případech (okresy Nymburk, Mladá Boleslav, Benešov) zjištěny zvýšené obsahy reziduí pesticidů (DDT a jeho metabolity), které mohou souviset s chemizací z intenzivní zemědělské výroby v nedávné minulosti.

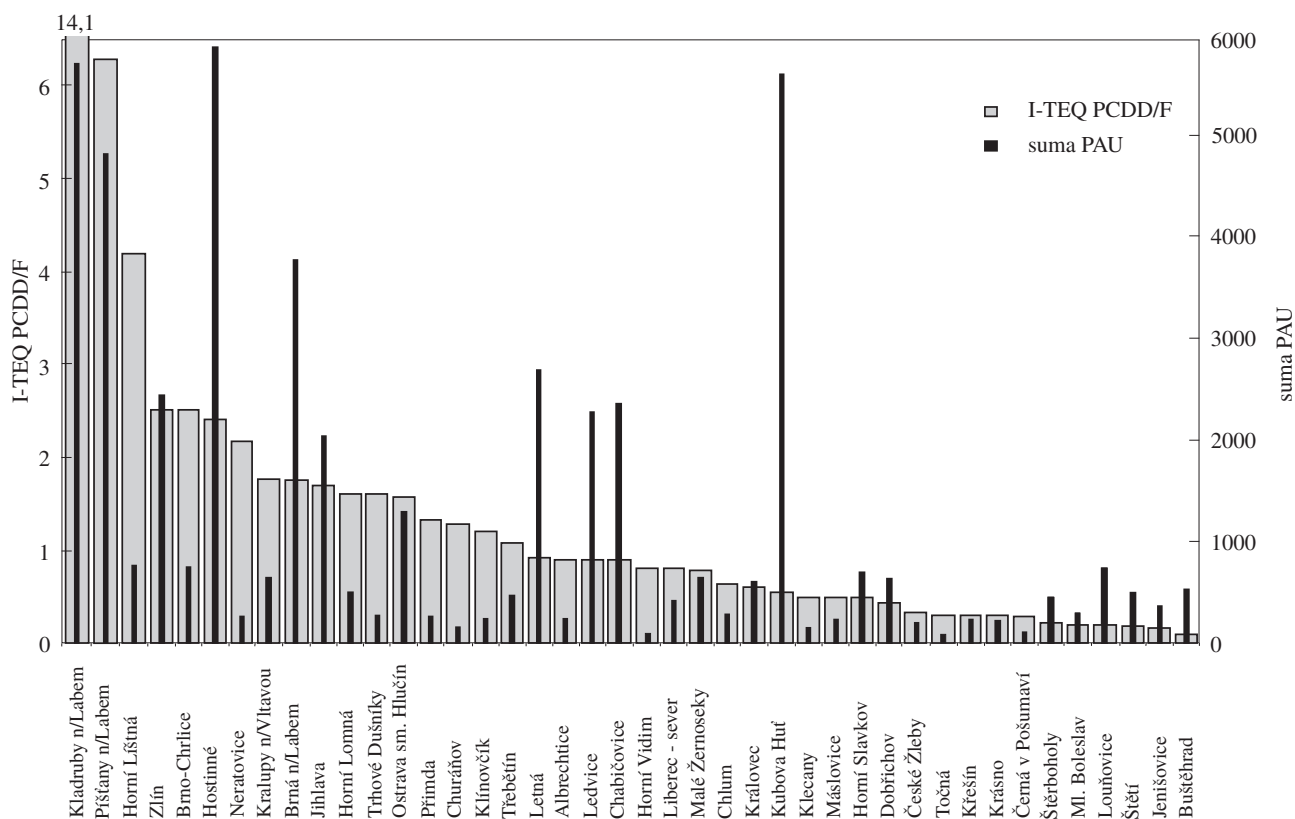
Rozdíly mezi okresy nacházíme také v charakteru zátěže uvedenými skupinami POP. Typickým příkladem je srovnání okresů Beroun a Příbram, ve kterých byly indikovány zvýšené hodnoty PAU a MAU. Zatímco v okrese Beroun byla stanovena vyšší průměrná zátěž uvedenými látkami, v příbramském okrese byla zjištěna nejvýraznější maxima těchto sloučenin. Nepříjemným, avšak ne příliš překvapivým zjištěním je, že vůbec nejvyšší průměrná zátěž celou skupinou POP byla lokalizována ve velkoměstské části Prahy.

Lokalizace zátěže není pochopitelně rovnoměrná ani v rámci jednotlivých okresů. Pro průmyslové okresy je typická zvýšená zátěž POP v bezprostřední blízkosti větších a průmyslových měst (Kladno, Příbram, Beroun, Kolín, Mladá Boleslav). Avšak i v ostatních, méně průmyslových okresech nebo jejich částech, byl v mnoha případech zjištěn růst koncentrací

POP (především PAU) ve vzorcích půd, odebraných v těsné blízkosti venkovských obcí. Tuto skutečnost si vysvětlujeme spalováním pevných paliv v domácích topeništích. Růst obsahu POP v půdách z okolí venkovských sídel je více transparentní v rovinných okresech (Nymburk), v členitém terénu (Liberec) se projevuje tendence kumulace vyšších koncentrací POP ve výše položených lokalitách.

Vyhodnocení skupiny 40 vzorků, odebraných v rámci studie výskytu PCDD/F v našich zemědělských půdách, potvrdilo vysokou zátěž fluvizemí (půdy z nivních sedimentů) v inundačních zónách velkých vodních toků (Labe), které jsou významněji kontaminovány také rizikovými prvky a dalšími POP. Suma toxických koeficientů (I-TEQ) ve vzorku fluvizemě, odebraném z lokality Kladruhy nad Labem, dosahuje hodnoty 14,1 ng.kg⁻¹ a je vůbec nejvyšší hodnotou z dosavadního souboru vzorků půd. Také v dalším odebraném vzorku fluvizemě z povodí Labe (Přístavy nad Labem) byla zjištěna hodnota, překračující německý limit pro aplikaci bezrizikového zemědělství (4 ng.kg⁻¹). Prokázalo se, že také výrazné působení imisních spadů v těsné blízkosti průmyslových aglomerací může za určitých podmínek (expozice lokality, převládající proudění vzduchu atd.) vést k takové koncentraci PCDD/F v zemědělských půdách, která přesáhne uvedený limit (lokality Horní Lištná u Třince). Aplikace čistírenských kalů významně zvýšila obsah a toxicitu PCDD/F v půdách (ve 2 vzorcích ze čtyř odebraných), a to v závislosti na kvalitě kalů, jeho dávkě a intenzitě použití.

Lokality souboru půd 40 vzorků jsme rozdělili do tří skupin dle hodnot I-TEQ PCDD/F (ng.kg⁻¹):



Obr. 2. I-TEQ PCDD/F a suma PAU ve sledovaných lokalitách

- 14–1,6, skupina půd s výraznou zátěží fluviaální, imisní a z dlouhodobé aplikace kalů z ČOV do půd,
- 1,3–0,5, skupina půd z oblasti se smíšenou zátěží i oblastí čistých,
- 0,4–0,1, skupina půd z převážně čistých území, místy však i oblastí, blízkých průmyslu.

Použití I-TEQ PCB jako indikátoru znečištění půd PCDD/F se jeví jako problematické. Výraznější shodu toxického ekvivalentu PCDD/F a PCB je možno pozorovat u silněji znečištěných lokalit, s především fluviaální a silnou imisní zátěží (obr. 1). U fluvizemí je patrná dobrá koincidence i mezi I-TEQ a sumou PAU, u ostatních typů zátěží jsou však rozdíly výrazné (obr. 2).

Z existujícího vzorku 40 půd byly statisticky odvozeny průměrné hodnoty a jejich horní mez. Tím byla stanovena hodnota horní meze pozadí I-TEQ PCDD/F jako $4,4 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1}$, což je v dobrém souladu s německým limitem.

Závěr

Provedená šetření poukazují na rozdíly v obsahu POP, včetně PCDD/F v zemědělských půdách různých oblastí. Charakter zátěže se mění v závislosti na zdroji znečištění, vzdálenosti lokality od tohoto zdroje a v závislosti na konfiguraci terénu. K nejsilněji kontaminovaným lokalitám POP náleží fluvizemě zátopových oblastí Labe (kontaminace znečištěnou vodou) a lokality v těsné blízkosti průmyslových aglomerací (působení minimálně zředěných exhalací z průmyslu na expo-

novaných lokalitách). Byl zjištěn také růst koncentrace celé škály POP, včetně PCDD/F, v půdách s dlouhodobou aplikací kalů z ČOV. Studie výskytu PCDD/F v zemědělských půdách přispěla ke zjištění některých zákonitostí zátěže touto skupinou látek (podchycení významných zdrojů znečištění, vztah k dalším sloučeninám ze skupiny POP) a umožnila prozatímní stanovení průměrných a pozadových hodnot sumy a toxických ekvivalentů PCDD/F a PCB v našich zemědělských půdách.

LITERATURA

1. Hagenmaier H., She J., Benz T., Dawidowsky N., Dusterhoft L., Lindig, C.: *Chemosphere* 25, 1457 (1992).
2. Holoubek I.: *Ochrana Ovzduši* 4, 3 (1995).
3. Holoubek I.: *Ochrana Ovzduši* 5, 10 (1995).
4. Jech L.: *Studie výskytu perzistentních organických látek v ovzduší a jejich depozice na území České republiky. Závěrečná zpráva projektu VaV 520/6/99*, str. 42. AXYS Varilab, Vrané n/V. 1999.
5. Němeček J., Podlešáková E., Firyt P.: *Rostlinna Vyroba* 40, 113 (1994).
6. Němeček J., Podlešáková E., Pastuzsková M.: *Rostlinna Vyroba* 42, 49 (1996).
7. Podlešáková E., Němeček J., Vácha R.: *Rostlinna Vyroba* 43, 357 (1997).
8. Podlešáková E., Němeček J., Vácha R.: *Rostlinna Vyroba* 46, 349 (2000).

JAKON (*Smallanthus sonchifolius*) A MAKA (*Lepidium meyenii*), TRADIČNÍ ANDSKÉ PLODINY JAKO NOVÉ FUNKČNÍ POTRAVINY NA EVROPSKÉM TRHU

KATEŘINA VALENTOVÁ^a, JAN FRČEK^b
a JITKA ULRICOVÁ^a

^aÚstav lékařské chemie a biochemie, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého, Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc, ^bVýzkumný ústav bramborářský, s.r.o., Dobrovského 2366, 580 01 Havlíčkův Brod
e-mail: dankovak@seznam.cz, frcek@vubhb.cz

Došlo dne 13.VII.2001

Klíčová slova: jakon, maka, funkční potravina, obsahové látky, biologická aktivita.

Obsah

1. Úvod
2. Botanický popis, historie, rozšíření a pěstování
3. Chemické složení a biologické účinky komponent
4. Využití v dietě a tradičním léčení
5. Závěr

1. Úvod

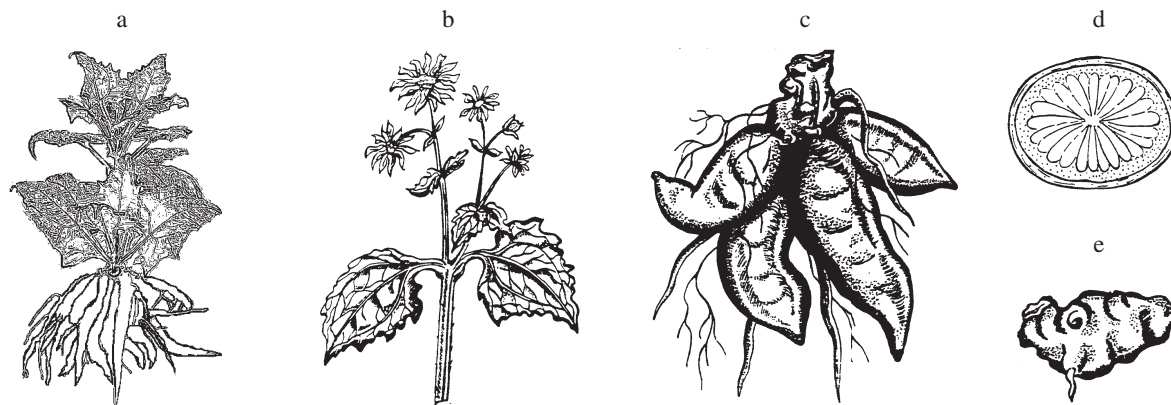
Optimálním složením diety lze preventivně předcházet mnohým chronickým onemocněním. Již klasickými příklady jsou ovlivnění hladiny cholesterolu v krvi, regulace a kontrola hladiny glukosy v krvi, snížení rizikových faktorů vzniku aterosklerózy a cukrovky, dietní substituce estrogenních hormonů v menopauze, ovlivnění průběhu osteoartritidy, prevence osteoporózy a nádorových onemocnění trávicího traktu, příznivý účinek na průběh některých neurologických onemocnění, zlepšení imunitní ochrany organismu, snížení toxických účinků nežádoucích složek potravy a toxických látek v životním prostředí. Produkty z rostlin, které svými účinky působí

pozitivně na lidský organismus, lze rozdělit na: *i*) funkční potraviny a *ii*) potravní doplňky (nutraceutika), tj. koncentrované, chemicky charakterizované a standardizované směsi látek získaných z rostlin, např. rostlinné extrakty. U všech potravinových produktů, které vykazují prokazatelný fyziologický efekt, je za jejich účinek zodpovědná určitá skupina látek, jako např. biogenní prvky, flavonoidy, fytoosteroly, polysacharidy (včetně vlákniny), rozvětvené β -D-glukany, polyneenasycené mastné kyseliny a další komponenty, u nichž byly prokázány pozitivní biologické účinky.

Zdravotní stav naší populace je takový, že v oblasti prevence je žádoucí nabídku trhu rozšiřovat o cenově dostupné, fyziologicky účinně působící a bezpečné funkční potraviny a potravní doplňky cíleně určené některým rizikovým skupinám populace a seniorům. Je zajímavé, že mnohé plodiny pocházející z oblasti And, na rozdíl od brambor a kukuřice, nejsou v Evropě téměř známy, přitom řada z nich po staletí pomáhala tamní populaci přežít v náročných klimatických podmínkách¹. V Andách se pěstují převážně hlíznaté a kořenové plodiny. Kromě několika druhů bramboru, *Solanum tuberosum*, *S. andigenum*, *S. ajanhuiri*, *S. stenotomum*, *S. gonio-calyx*, *S. phureja*², také šťavel hlíznatý (*Oxalis tuberosa*), lichořeřišnice hlíznatá (*Tropaeolum tuberosum*), achira (*Canna edulis*), ahipa (*Pachyrhizus ahipa*), arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*), melok hlíznatý (*Ullucus tuberosus*), jakon (*Smallanthus sonchifolius*) a maka (*Lepidium meyenii*)³. Tento článek se zabývá posledními dvěma uvedenými plodinami, jakonem a makou, které lze úspěšně pěstovat v České republice. Jakon (*S. sonchifolius*, Asteraceae (Compositae)) je rostlina příbuzná topinamburu (*Helianthus tuberosus*). Maka (*L. meyenii*, Brassicaceae) je příbuzná řepičce (*L. sativum*) a etnofarmakology je nazývána peruánským ženšenem.

2. Botanický popis, historie, rozšíření a pěstování

Jakon (obr. 1) a jemu příbuzné rostliny byly původně zařazeny do rodu *Polymnia* (Asteraceae, Heliantheae, Melam-



Obr. 1. Jakon (*Smallanthus sonchifolius*); a – celkový vzhled, b – nadzemní část, c – podzemní hlízy, d – řez kořenovou hlízou, e – kaudex

Tabulka I

Další druhy *Smallanthus* podle H. Robinsona (1978), jejich habitus, výška, rozšíření⁹ a somatický počet chromosomů³

Druh	Habitus	Výška	Rozšíření	Chromosomy
<i>S. apus</i> (Blake)			velmi málo známý mexický druh	32
<i>S. connatus</i> (Spreng.)	jednoletá bylina	do 2 m, vytváří jedlé hlízy	velmi rozšířený – Brazílie, Paraguay, Uruguay, východní Argentina	32
<i>S. fruticosus</i> (Benth.)	keř nebo strom	do 12 m	Kolumbie, Ekvádor, severní Peru	>50
<i>S. glabratus</i> (DC.)	keř nebo strom	do 8 m	Peru, Ekvádor, Chile	
<i>S. jelksii</i> (Hieron.)	keř nebo strom	do 8 m	Peru	58
<i>S. latisquamus</i> (Blake)	bylina	do 3 m	Kostarika	
<i>S. lundellii</i>	bylina	do 1 m	Guatemala	
<i>S. macroscyphus</i> (Baker ex. Martius) A. Grau	vytrvalá bylina	do 3 m	Bolivie, severozápadní Argentina	32
<i>S. maculatus</i> (Cav.)	hrubý keř	do 5 m	Mexiko, Guatemala, Honduras, Salvador, Nicaragua, Kostarika	32,68
<i>S. macvaughii</i> (Wells)	bylina	do 5 m	Mexiko	
<i>S. meridensis</i> (Steyerm.)	bylina se stonky	do 3 m	Venezuela a Kolumbie	
<i>S. microcephalus</i>	keř nebo malý strom	do 8 m	Ekvádor	54,60
<i>S. oaxacanus</i> (Sch. Bip. ex Klatt)	bylina	do 2 m	Mexiko, Guatemala a Honduras	32
<i>S. parviceps</i> (Blake)	keř nebo strom	do 8 m se stonky o Ø 15 cm	jižní Peru a severní Bolívie	58
<i>S. pyramidalis</i> (Triana)	strom	do 12 m na bázi o Ø 20 cm	Venezuela, Kolumbie a Ekvádor	60,58
<i>S. quichensis</i> (Coult.)	bylina		Kostarika, Guatemala	
<i>S. riparius</i> (H.B.K.)	bylina nebo keř	do 4 m	široce rozšířený druh od jižního Mexika po severní Bolívii	30,32
<i>S. siegesbeckius</i> (DC.)	vytrvalá bylina	do 5 m, mnoho hlíznatých kořenů podobných jakonu	Peru, Bolívie, Brazílie a Paraguay	
<i>S. suffruticosus</i> (Baker)	keř nebo bylina	do 2 m	nížiny Venezuelské Amazonie	
<i>S. uvedalius</i> (L.) (Mackenzie)	vytrvalá bylina	do 3 m	rozšířený druh na východě USA, od New Yorku po Floridu a Texas	32

podinae)³⁻⁸, přestože už v roce 1933 byl navrhován rod *Smallanthus* (Asteraceae, Heliantheae), který v roce 1978 znovu objevil Robinson a zařadil do něj 21 druhů⁹. Toto nové zařazení, *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.), se dnes všeobecně používá jako primární, starší název *Polymnia sonchifolia* (Poepp. & Endl.) se považuje za synonymum^{3,10}, je možné se setkat také s názvem *Polymnia edulis*¹¹. Přehled dalších 20 příbuzných (planých) druhů rodu *Smallanthus*, z nichž některé vytváří keře a menší stromy, je uveden v tab. I (cit.⁹). Pouze *S. connatus*, *S. macroscyphus*, *S. riparius*, *S. meridensis*, *S. suffruticosus* a *S. siegesbeckius* s přihlédnutím ke geografickému rozložení, růstovému habitu a morfologii nadzemních částí, jsou blíže příbuzné druhy k *S. sonchifolius*³. Jakon je vytrvalá rostlina, vytvářející shluk více než dvaceti¹¹ velkých podzemních kořenových hlíz (obr. 1c, d) o hmotnosti 100–500 g, mimořádně i více než kilogram^{5,12}. Hlízy jsou podobné hlízám jirín^{5,7,8}. Jejich tvar a velikost závisí na konkrétním kultivaru. Kořenové hlízy jsou jedlé, na povrchu jsou kryté tenkou bezbarvou slupkou, která na vzduchu rychle tmavne. Pod slupkou se nachází korová vrstva slabě pryskyřičnaté chuti a pod ní jemná dužina sklovitého vzhledu, bíle až oranžově zbarvená, jemně ovocné chuti¹². Celá rostlina je

výrazně citlivější na zmrznutí, než je tomu u jirín (*Dahlia*), proto je v našich klimatických podmínkách vymezeno její pěstování od výsadby do sklizně na mnohem kratší vegetační období oproti zemi jejího původu¹³. Mimo hlízy kořenové má jakon také jedlé hlízy stonkové, tzv. kaudexy (obr. 1e). Kaudexy slouží k vegetativnímu (jedinému možnému, schopnost pohlavního rozmnožování rostlina ztratila³) rozmnožování této rostliny¹², pomocí kterého je rovněž možné vhodně selektovat odrůdy s největšími výnosy a nejlepšími vlastnostmi z hlediska pěstování. Nadzemní část rostliny je na obr. 1b. Stonky mohou dosahovat až 2 metrů výšky, jsou hustě olistěné tmavozelenými listy, které jsou ochlupené a zbarvené do fialova. Květenství jsou drobné úbory, žluté nebo oranžové, asi 3 cm v průměru, vyrůstající v latách na vrcholu stonku⁵. Tvoří oba typy květů – oboupohlavní květy ve střední části květenství a jazykovité samičí květy po obvodu. Produkce květů je u jakonu poměrně omezena, více než u planě rostoucích druhů rodu *Smallanthus*. Plody jsou drobné, asi 2 mm velké černé nažky. Somatický počet chromosomů u jakonu je dle autorů¹⁴ $2n = 60$, což je v souladu s cytologickými analýzami našeho klonového materiálu. Již ve velmi raných vývojových stadiích andství zemědělci poznali vlastnosti jakonu

Tabulka II

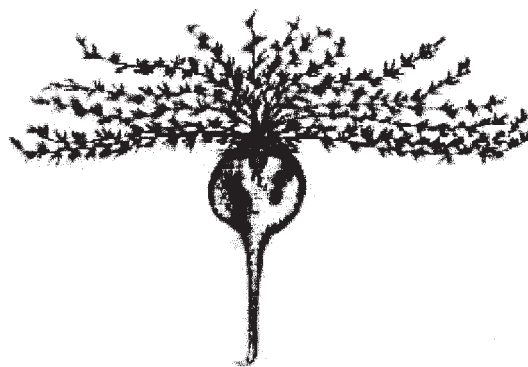
Druhy *Lepidium* s výskytem v Peru¹⁸ užívané v lidovém léčitelství¹⁹

Druh	Habitus	Nadmořská výška [m]	Lokalita ^a
<i>L. abronatifolium</i> (Turc.)	bylina	2000–2500	JU, LI
<i>L. bipinnatifidum</i> (Desv.)	bylina ¹⁹	2500–4500	AN, AR, CA, CU, HU, LI, LL, PU
<i>L. chichicara</i> (Desv.)	bylina ¹⁹	500–3000	AP, AR, AY, CA, LI, PU
<i>L. cyclocarpum</i> (Thell.)	keř	500–1000	AR, LI
<i>L. depressum</i> (Thell.)	bylina	4000–4500	JU
<i>L. kalenbornii</i> (Hitch.)	bylina ¹⁹	3000–4500	AY (endemit)
<i>L. meyenii</i> (Walp.)	bylina ¹⁹	4000–4500	MO, PU (kulturní plodina)
<i>L. peruvianum</i> (Chacón)	bylina	4000–4500	JU, PA
<i>L. pubescens</i> (Desv.)	bylina	0–500	LI
<i>L. raimondii</i> (Schulz)	bylina	0–500	CA, LL
<i>L. virginicum</i> (Hitch.)	bylina	0–1500	CA, LI, LL, MO, PI (introdukce)
<i>L. weddellii</i>	bylina	0–500	LI

^a AN = Ancash, AP = Apurimac, AR = Arequipa, AY = Ayacucho, CA = Cajamarca, CU = Cuzco, HU = Huánuco, JU = Junín, LI = Lima, LL = La Libertad, PA = Pasco, MO = Moquegua, PI = Piura, PU = Puno

a přeměnili tuto plodinu z plané na kulturní. Jakon byl nalezen již v pohřebištích z dob před Inky². V pobřežním archeologickém nalezišti Nazca (500–1200 n. l.) byla objevena vůbec nejstarší zobrazení jakonu na textiliích a na keramice³. První písemná zmínka o jakonu pochází z roku 1653 od kronikáře Padre Bernabé Cobo¹¹. V Andách se jakon pěstuje v nadmořských výškách od 880 do 3500 m. Je rozšířen od Venezuely až po severozápadní Argentinu¹¹. Většinou je pěstováno jen několik rostlin pro potřebu rodiny³. Z And se jakon dostal v osmdesátých letech minulého století přes Nový Zéland až do Japonska⁸. Jeho pěstování bylo také úspěšně zavedeno do Itálie, Německu, Francii a v USA, ale zatím nedosáhlo významnějšího rozšíření. Zejména v Itálii se hlízy jakonu používají k výrobě alkoholu a inulinu¹¹. Do České republiky byla tato plodina poprvé zavedena v roce 1993 ve formě kaudexů pocházejících z Nového Zélandu^{5,8}. Bylo zjištěno, že jakon je rostlina s neutrální reakcí na délku dne, schopná se dobře přizpůsobit sezónním výkyvům počasí, snášející dobře sucho a chlad, bez zvláštních nároků na půdu. V podmínkách Vysociny bez možnosti zavlažování je možno dosáhnout výnosu 40 t/ha kořenových hlíz, 10 t/ha kaudexů jako sadbového materiálu a minimálně 20 t/ha nadzemní hmoty. Rostlina je citlivá vůči mrazu, noční teploty těsně nad bodem mrazu ještě úspěšně snáší⁸. Sklizeň se provádí po objevení se květenství na vrcholech stonků nebo příchodu prvních podzemních mrazíků. Kořenové hlízy i kaudexy lze uchovávat v temperovaných skladech do května příštího roku.

Rod *Lepidium* patří do čeledi Brassicaceae (Cruciferae), ve které jsou i další plodiny jako např. řepka, zelí, kapusta, ředkev, hořčice a která je rozšířena po všech kontinentech¹⁵. Pochází zřejmě ze Středomoří, do Ameriky a Austrálie se pravděpodobně dostal v období třetího až čtvrtého tisíciletí př. n. l. *Lepidium* má přibližně 175 druhů, z nichž některé jsou zeleninou, např. řeřicha setá (*L. sativum*). Přehled druhů rodu *Lepidium* s výskytem v Peru¹⁶ a užívaných v lidovém léčitelství¹⁷ je v tab. II. Řeřicha – maka (*L. meyenii* Walpers, obr. 2) je rozšířena po celé Jižní Americe a je pěstována jako škrobnatá plodina. *L. peruvianum* Chacón se vyskytuje pouze v Peru^{18,19}. Nadzemní část *L. meyenii* tvoří růžici 12–20 listů podobně jako

Obr. 2. Maka (*Lepidium meyenii*)

u ředkve, hlavní stonek je redukován, spodní část se rozšiřuje ve skladovací orgán podobný tuřínu^{1,18}. Tento orgán je zduřinatělý hypokotyl a je současně hlavním ekonomickým produktem řeřichy maka. Má různé odstíny od nažloutlé až po hnědočervenou (Peruánci rozeznávají 4 odrůdy, krémově žlutou, narůžovělou, červenou a černou¹), je 10–14 cm dlouhý a 3–5 cm široký, tvrdé konzistence¹⁸. Maka je jednoletá rostlina, schopná za vhodných klimatických podmínek dokončit během jediného roku svůj celý vegetační cyklus a vyprodukovat semena, což je jediný možný způsob jejího rozmnožování. Semena nemají periodu dormance, vyklíčí za 5–7 dní při 25 °C a vhodné vláze. Jedna rostlina je schopna vyprodukovat kolem 14 g semen¹⁵. Rozmnožuje se zřejmě samoopylením. Základní genomický počet chromosomů je u řeřich $x = 8$. Maka je octoploid s $2n = 8x = 64$ chromosomy¹⁹. Přímí předchůdci *L. meyenii* nejsou známi, je však jisté, že to není žádný ze tří hlavních planých druhů rodu *Lepidium* rozšířených v Andách tedy *L. bipinnatifidum*, *L. kalenbornii* ani *L. chichicara*. Pěstovaná maka (*L. meyenii*) je také jediným druhem tohoto rodu, který produkuje hlíznaté kořeny²⁰. První zemědělci a pastevci žili v Andách již 2000 let př. n. l. a zdá se, že maka byla domestikována už dlouho před začátkem říše Inků. Primitivní

Tabulka III

Obsah látek v hlízách, listech a stoncích jakonu^{3,7,24}, v hlízách topinamburu²⁵, v sušených hypokotylech maky²³ a v ředkvi²⁶

Rostlinný orgán	Jakon			Topinambur ²⁵ hlíza	Maka ²³ hypokotyl	Ředkev ²⁶ hypokotyl
	hlíza	list ⁸	stonek ⁸			
Voda [%]	93–70 ³	10,47		80	10,4 ^c	88,8
Proteiny	0,4–2,0 ³	21,48 ^a	9,73 ^a	10–15 ^b	10,2 ^c	1,9
Sacharidy	12,58			60–76 ^b	59,0 ^c	6,6
Tuky	0,1–0,3 ³	4,2	1,98	1 ^b	2,2 ^c	
Popel	0,3–2,0 ³	12,52	9,60	5 ^b	4,9 ^c	1,2
Vláknina	0,3–1,7 ³	11,63	23,82	4–6 ^b	8,5 ^c	
Vápník [mg/100 g]	23 ³	1805	967	23	150 ^c	1,2
Fosfor	21 ³	543	415	99		0,7
Železo	0,3 ³	10,82	7,29	3,4	16,6 ^c	0,02
Měď	0,963 ⁷	<0,5	<0,5		5,9 ^c	
Mangan	0,541 ⁷	3,067	<0,5		0,8 ^c	
Zinek	0,674 ⁷	6,20	2,93	stopy	3,8 ^c	
Retinol	10 ³					
Thiamin	0,01 ³				0,28 ^{16,c}	0,05
Askorbát	13,10 ³			stopy	8,00 ^{16,c}	20,0
Karoten	0,02 ³					–
Riboflavin	0,11 ³			stopy	0,65 ^{16,c}	0,05
Niacin	0,34 ³			stopy		0,30

^a Obsah N-látek, ^b obsah v sušině, ^c obsah v sušeném hypokotylu

Tabulka IV

Obsah sacharidů v hlíze jakonu⁶

Složka ^a	Zastoupení [mg.g ⁻¹ sušiny]
Fruktosa	350,1±42,0
Glukosa	158,3±28,6
Sacharosa	74,5±19,0
GF ₂	60,1±12,6
GF ₃	47,4±8,2
GF ₄	33,6±9,3
GF ₅	20,6±5,2
GF ₆	15,8±4,0
GF ₇	12,7±4,0
GF ₈	9,6±7,2
GF ₉	6,6±2,3
Inulin	13,5±0,4

^a G = glukosa, F = fruktosa, GF_n = glukosylfruktosa, n je stupeň polymerizace

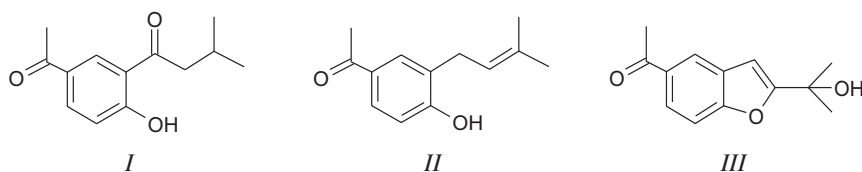
kultivary maky byly nalezeny v archeologických nalezištích z doby kolem 1600 let př. n. l. (cit.²). Kupodivu se však maka neobjevuje na staré peruánské keramice, tak bohaté vyobrazeními zemědělských plodin¹. Znalost této plodiny a jejích účinků se předávala z generace na generaci. V období španělské kolonizace domorodci dokonce maky používali jako plátdla¹⁸. Přestože je maka adaptována na vysoké nadmořské výšky a extrémně nízké teploty (při nižších teplotách dokonce rychleji roste¹⁹), je možné ji s úspěchem přesadit na peruánské pobřeží¹⁸. Je to rostlina s neutrální reakcí na délku dne^{15,19}, lze

ji úspěšně pěstovat i mimo přirozená stanoviště¹⁵. V loňském roce se podařilo vypěstovat hypokotyle maky i v ČR. Dosud však není známo, jak se změna podmínek pěstování odrazí na složení obsahových látek. Někteří autoři²¹ se domnívají, že právě náročné životní podmínky dávají mace její sílu a účinnost. V nižších nadmořských výškách, jako např. v Německu, maka dokonce netvoří hypokotyle²¹. V ČR maka hypokotyle vytvořila pouze na poli, ve skleníku nikoli. Zdá se, že pro tvorbu hypokotylů je chladné klima důležité. Na rozdíl od praxe uplatňované při pěstování řeřichy maky v Peru²², prováděli jsme individuální výsevy semen klonů maky a předpěstování mladých rostlin ve skleníkových podmínkách s jejich následnou výsadbou do polních podmínek.

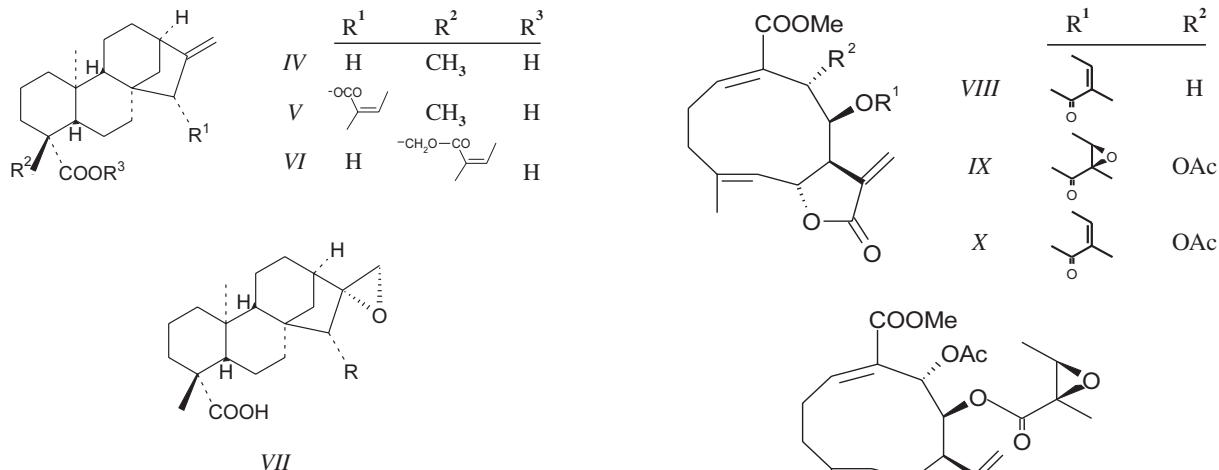
3. Chemické složení a biologické účinky komponent

Základní chemické složení rostlinných částí jakonu a sušených hypokotylů maky²³ (čerstvá maka obsahuje až 80 % vody, její složení nebylo v literatuře nalezeno) uvádí tab. III. Složení jakonu publikované v literatuře^{3,7,24} se různí. V tab. III je pro srovnání uveden obsah látek v topinamburu (*Helianthus tuberosus*)²⁵ a v ředkvi seté (*Raphanus sativus*)²⁶.

Hlízy obsahují jako zásobní látku inulin a jiné fruktany s nízkým podílem glukosy. Struktura oligofruktanů je typu inulinu, tj. β-1,2 vazbou spojené fruktofuranosové jednotky zakončené terminální sacharosou (viz tab. IV) stejně jako v jiných rostlinách čeledi Asteraceae, jako je např. topinambur²⁷. Obdobné fruktany o nízkém stupni polymerizace byly používány jako náhražky sacharosy a jsou považovány za nízkooenergetické. Mají příznivý vliv na lidskou střevní flóru



Obr. 3. Antifungální fytoalexiny z hlíz jakonu

Obr. 4. *Ent*-kaurenová kyselina a její deriváty obsažené v listech jakonu

a mohou upravovat některé z typů hyperlipidemií. Lidský organismus nemá enzym schopný inulin hydrolyzovat². β -1,2-Fruktany inulinového typu jsou součástí dietní vlákniny, tj. nestravitelných reziduí rostlinného původu v lidské dietě²⁸. β -1,2-Fruktany jsou svými účinky blízké β -glukanům, přírodním polysacharidům z kvasinek, hub a droždí, které působí jako nespecifické stimulatory imunitního systému organismu. Tyto látky se specificky váží na makrofágy, čímž je aktivují, a tím iniciují celou kaskádu imunitního procesu. β -Glukany se doporučují při oslabení imunitního systému, infekcích, alergiích, syndromu chronické únavy, vysoké hladině cholesterolu, žaludečních obtížích, při únavovém syndromu a jako doplňková léčba v terapii nádorových onemocnění²⁹. Hlízy jsou dále bohaté na volnou fruktosu, glukosu a sacharosu⁶. Obsah sacharidů a enzymů spojených s jejich metabolismem se v hlízách mění v průběhu kultivace a skladování hlíz; v průběhu kultivace roste stupeň polymerizace fruktanů, zatímco při skladování tento klesá a roste obsah volné fruktosy, glukosy a sacharosy^{30,31}. Ke stejným změnám ve složení dochází také u topinamburu, dosud největšímu komerčnímu zdroji inulinu a fruktosy³². V hlízách jakonu byly identifikovány polyfenoly v množství (203 mg/100 g) (cit.³³), antioxidanty tryptofan (14,6±7,1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) a chlorogenová kyselina (48,5±12,9 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)¹⁰. V acetonovém extraktu z hlíz byly kombinací chromatografických metod izolovány antifungální fytoalexiny odvozené od 4'-hydroxyacetofenonu: 4'-hydroxy-3'-(3-methylbutanoyl) acetofenon (*I*), 4'-hydroxy-3'-(3-methylbutenyl) acetofenon (*II*) a 5-acetyl-2-(1-hydroxy-3-methylethyl) benzofuran (*III*) (obr. 3). Stejně sloučeniny se vyskytují i u jiných druhů čeledi Asteraceae³⁴. Listy jakonu obsahují kromě látek uvedených v tab. III také katechol,

Obr. 5. Sonchifolin a jeho deriváty

terpeny a flavonoidy³³. Methanolický extrakt z listů jakonu obsahuje ve frakci rozpustné v ethylacetátu *ent*-kaurenovou kyselinu (*IV*) a příbuzné diterpenoidní látky (15-angeloyl ester kyseliny *ent*-kaurenové (*V*), 18-angeloyloxy-*ent*-kaurenovou kyselinu (*VI*) a 15-angeloyloxy ester kyseliny *ent*-kaurenové 16-epoxid (*VII*) (obr. 4). Tyto sloučeniny mají pravděpodobně svoji funkci v obranných mechanismech jakonu. Během jeho pěstování není potřeba používat žádné herbicidy³⁵. *Ent*-kaurenová kyselina je jedním z meziproduktů při biosyntéze terpenoidních fytohormonů giberelinů v *Gibberella fujikuroi*³⁶. V propolisu divokých brazilských včel *Melipona quadrifasciata anthidioides* je nositelem jeho antibakteriálního účinku³⁷. V 70% methanolickém extraktu z listů byly ve frakci rozpustné v ethylacetátu sloupcovou chromatografií na silikagelu a HPLC izolovány antifungální seskviterpenlaktony typu melampolidů, sonchifolin (*VIII*) (methylester 8-angeloyl-1(10),4,11(13)-germacratien-12,6-olid-14-ové kyseliny), polymatin B (*IX*) (acetoxyderivát sonchifolinu na C-9), uvedalin (*X*) (derivát polymatinu s epoxidovanou angeloyloxy skupinou) a enhydrin (*XI*) (epoxyderivát uvedalínu)³⁸ (obr. 5). Tyto látky obsahují i jiné druhy rodu *Smilax*, např. *S. uvedalia*³⁹ (obsahuje mimo jiné i enhydrin⁴⁰), *S. fruticosus*⁴¹ a *S. maculatus*, stejně jako druhy rodu *Melampodium* (Asteraceae)⁴², podle kterého byly tyto sloučeniny pojmenovány. Seskviterpenlaktony z *S. maculatus* měly protizánětlivou aktivitu⁴³. Z *S. fruticosus* byly izolovány kromě melampolidů také flavonoidní látky s antimotickou aktivitou, zejména

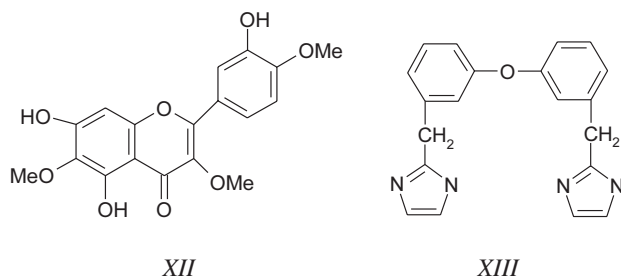
centaureidin (XII) (4,5,7-trihydroxy-3,6-dimethoxy-flavon)⁴⁴. Seskviterpenlaktony se zdají být chemotaxonomickým znakem pro čeleď Asteraceae. V rostlinách této čeledi jsou zastoupeny poměrně pravidelně a vykazují výraznou biologickou aktivitu, např. artemisin a příbuzné seskviterpenlaktony z *Artemisia annua* vykazují aktivitu antimalarickou⁴⁵ a cytotoxickou vůči buňkám kostní dřevě a nádorovým⁴⁶, repin z *Acroptilon repens* je toxický vůči embryonálním sensorickým neuronům⁴⁷. Cytotoxické vůči nádorovým buňkám jsou také hypocretenolidy z *Leotodon hispidus*⁴⁸. Seskviterpenlaktony typu germacrane, tedy příbuzné těm obsaženým v jakonu, byly mezi jinými látkami (flavonoidy, kumariny, fenolickými kyselinami, triterpenoidy, steroidy a seskviterpenlaktony typu gaianu) izolovány i z pampelišky (*Taraxacum officinale* Web.), která je tradičně používána pro své choleretické, diuretické a protizánětlivé účinky.

V hypokotylech *L. meyeri* z mastných kyselin převažují kyseliny linoleová, palmitová a olejová, z aminokyselin lysin a arginin⁴⁹. V hypokotylech maky byly zjištěny také mnohé stopové prvky, Mn, Cu, Sn, Al, Zn, Bi, dále taniny, saponiny, ale především zde byly nalezeny látky alkaloidového charakteru nazvané makain 1, 2, 3 a 4 (cit. 18,23). Tyto látky, strukturně necharakterizované, se nacházely v acetonovém, etherovém a ethanolickém extraktu. Chacón de Popovici¹⁸ ze závěrů svých experimentů (viz níže) předpokládá, že právě tyto alkaloidy jsou účinnou složkou maky. V semenech příbuzné řeřichy seté (*L. sativum*) se vyskytuje alkaloid lepidin XIII. Autoři¹⁵ se domnívají, že účinnou složkou maky jsou látky povahy aromatických isothiokyanátů, konkrétně benzyliothiokyanát a 4-methoxybenzyliothiokyanát nebo prostaglandiny a steroidy. Aromatické isothiokyanáty se vyskytují v lichořeřišnici hlízkaté (*Tropaeolum tuberosum*) zvané mashua, která má pověst antifrodiziaka a kontraceptiva u mužů a údajně zvyšuje plodnost u žen⁵⁰. Její hypokotyle mají velmi výraznou nepříjemnou vůni¹⁵.

Již zmíněná mace blízce příbuzná rostlina, řeřicha setá (*L. sativum*), je zajímavým zdrojem kyseliny askorbové (52 mg ve 100 g hmoty), β-karotenu, vitamínů B₁ a K. Její typickou kořenitou chuť způsobují glykosidy hořčičného oleje, odvozené ze sirmých etherických olejů, zvl. glykotropaeolinu a benzyliothiokyanátu. Řeřicha setá zlepšuje trávení. Jiná evropská příbuzná maky, ředkev setá (*Raphanus sativus* var. *nigra*), obsahuje mimo jiné glukobrassicin (3-indoyl-methylglukosinolát), isothiokyanáty a tradičně se používá jako choleretikum, cholagogum, při onemocnění bronchů a na popálení^{51,52}.

4. Využití v dietě a tradičním léčitelství

Na místních trzích v Andách je jakon klasifikován jako ovoce a prodáván společně s jablky, avokády, ananasy a nikoli společně s brambory či kořenovou zeleninou, jak bychom mohli očekávat. Jeho hlízy mají příjemně nasládlou chuť, jsou křupavé a většinou se vystavují expozici na slunci, kdy dochází ke zvýšení cukernatosti. Konzumují se po oloupaní většinou v ovocných salátech v kombinaci např. s banány, pomeranči. Mohou se jíst dušené, kdy do jisté míry zachovávají svou křehkost. Z hlíz lze vymačkat osvěžující džus či vyrobit koncentrát vhodný jako sladidlo pro diabetiky³. Je možné je vařit, smažit či jinak upravovat^{5,8,12}. Jako zeleninu lze použít i stonek mladých rostlin. Hlavní stonek se používá



podobně jako celer². V Japonsku se hlízy jakonu zpracovávají do džusů, pečiva, fermentované formy, lyofilizovaných prášků a dřev⁵³. Vhodnost potravin z jakonu pro přípravu diabetických pokrmů, redukčních diet a diet pro pacienty s chronickými jaterními nemocemi byla prokázána také studií provedenou ve Fakultní nemocnici v Olomouci⁵⁴. V literatuře jsou zmiňovány také diuretické účinky a hojivý účinek na zanícenou pokožku. V Brazílii připisují léčivý účinek listům jakonu, ze kterých je připravován čaj. V Japonsku se listy a stonky jakonu míchají s čajovými lístky⁵³. Hlízy jakonu je možné využít jako krmivo pro hospodářská zvířata, lze využít i nadzemních částí, zejména pro vysoký obsah proteinů³. Hypoglykemický účinek vodného extraktu z listů jakonu byl prokázán na normálních a diabetických potkanech^{3,55}.

Maka se jí syrová nebo se upravuje v „Setonově hrnci“, což je vyhloubená jáma, do níž se naskládají rozpálené kameny. Nejčastěji se však maka volně suší na slunci. Sušená si zachovává své vlastnosti po mnoho let¹⁵. Usušené hypokotyle se vaří ve vodě nebo v mléce, vývar se používá po přidání cukru, medu, ovoce do koktejlů, ovocných či alkoholických nápojů, ovocných salátů, pro přípravu želatiny a marmelády. Domorodí léčitelé doporučují vývar při rekonvalescenci¹⁸. Ze sušené maky Indiáni připravují mouku na chléb a pečivo, případně ji praží a melou pro použití jako kávu¹⁵. Sušené hypokotyle se nakládají do třtinového rumu, kterému dodávají specifické aroma¹. V některých oblastech Peru se maka fermentuje a vyrábí se z ní pivo⁴⁹. Listy, podobně jako blízce příbuzná zahradní řeřicha (*L. sativum*), se konzumují v salátech². Komplementární a alternativní medicína doporučuje rozemleté hypokotyle maky jako prostředek ke zvyšování fertility, která je ve vyšších nadmořských výškách redukována, a jako afrodiziakum u lidí a zvířat. Indiánské ženy ji jedí, když chtějí otěhotnět¹. V Jižní Americe je maka nazývána peruánským nebo andským ženšenem^{1,15,56}. Dále se mace připisují adaptogenní vlastnosti, imunostimulační účinky, příznivý vliv na hormonální rovnováhu, doporučuje se v období menopauzy, působí jako anabolikum. Maka se mele na prášek a prodává se jako potravní doplněk¹. V Peru je maka nabízena ve formě mouky, lupínků, likérů aj.⁴⁹, v USA se distribuje pod komerčními názvy Royal MacaTM (cit. 57) nebo MacaMagicTM (cit. 58), v naší republice se prodává přípravek Vimaca[®]. Seriózní výzkum ohledně jejích účinků nebyl dosud podle dostupných literárních zdrojů proveden. Afrodiziakální účinky maky se připisují zejména jejím alkaloidům, které podle Natural Health Consultants⁵⁷ působí na hypothalamo-hypofyzární systém. Producent tablet MacaMagic HERBS AMERICA⁵⁸ naproti tomu udává, že jedinečné účinky maky jsou dány především složením esenciálních aminokyselin, mastných kyselin, vitamínů a minerálů. Chacón de Popovici¹⁸ doporučuje použití

maky při malabsorbčním syndromu, karenci proteinů, jako podpůrný prostředek při chemoterapii leukemických onemocnění, AIDS, ethylismu a menopauzální anémii, uvádí se její použití k léčbě chronické polyarthritis, při alergických záchvatech a jako laxativum⁵⁰. Tradiční použití maky se váže i k náboženským obřadům. Maka se míchala s halucinogenními látkami používanými při obětních obřadech⁵⁰. Hodnověrných farmakologických průkazů všech citovaných účinků je ve světové literatuře málo. Chacón de Popovici¹⁸ v experimentu na potkaních samicích krmených makou po dobu 6 měsíců či extraktem obsahujícím alkaloidy uvádí, že u samic došlo ke stimulaci zrání Graafových folikulů. Účinek nebyl pozorován u kontrolních zvířat ani u zvířat, kterým byla droga aplikována intraperitoneálně. U samců krmených makou se projevila zřetelná stimulace spermatogeneze. Hodnocení nutričních vlastností maky bylo studováno na bílých myších⁵⁹. Růstové křivky byly ve všech skupinách myší krmených makou statisticky významně lepší než v kontrolní skupině. Výsledky, dle autorů, demonstrují vynikající nutriční vlastnosti maky, jak je tradováno po staletí.

5. Závěr

Trendy v oblasti potravních doplňků a fukčních potravin, obsahujících biologicky aktivní přírodní látky, jsou orientovány v tomto tisíciletí na využití intaktních rostlin nebo rostlinných extraktů. Nutraceutika se postupně stanou nezbytnou součástí dietního režimu všech skupin populace v prevenci nebo podpůrné terapii některých chronických onemocnění. Vzhledem k tomu, že jakon a maku je možné pěstovat v klimatických podmínkách České republiky, předpokládáme, že by potravní doplňky z těchto plodin mohly být přínosem k prevenci a podpůrné léčbě onemocnění jako je diabetes mellitus, kardiovaskulární onemocnění, únavový syndrom a jiné. Přípravky by měly být ekonomicky dostupné široké populaci, bez nepříznivých vedlejších účinků a vyhovující platné legislativě⁶⁰. Komplexní výzkum jakonu a maky, které lze získat z domácích zdrojů, je spojen s malým ekonomickým rizikem a dobrými možnostmi rychlé aplikace výsledků.

Tato práce vznikla za finanční podpory GA ČR (grant č. 303/01/0171), Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy (Výzkumný záměr MSM 151100003) a LF UP Olomouc (interní grantový projekt č. 11501109). Autoři děkují prof. Alešovi Lebedovi, DrSc. (PřF UP) a prof. Vilému Šimánkovi, DrSc. (LF UP) za cenné připomínky.

LITERATURA

1. León J.: *Econ. Bot.* 18, 122 (1964).
2. National Research Council, v knize: *Lost Crops of the Incas: Little-Known Plants of the Andes with promise for Worldwide Cultivation*. National Academy Press, Washington, D.C. 1989.
3. Grau A., Rea J., v knize: *Andean Roots and Tubers: Ahipa, Arracacha, Maca and Yacon* (Hermann M., Heller J., ed.), str. 174. IPGRI, Rome 1997.
4. Wells J. R.: *Brittonia* 17, 144 (1965).
5. Frček J., Loyková V.: *Vyz. Potrav.* 52, 131 (1997).
6. Ohyama T., Ito O., Yasuyoshi S., Ikarashi T., Minamisawa K., Kubota M., Tsukihashi T., Asami T.: *Soil Sci. Plant Nutr.* 36, 167 (1990).
7. Asami T., Kubota M., Minamisawa K., Tsukihashi T.: *Jpn. J. Soil Sci. Plant. Nutr.* 60, 122 (1989).
8. Frček J., Michl J., Pavlas J., Šupichová J.: *Plant Genetic Resources* (Annual report 1995), str. 73. University of Agriculture in Nitra, Nitra 1995.
9. Robinson H.: *Phytologia* 39, 47 (1978).
10. Yan X., Suzuki M., Ahnishi-Kameyama M., Sada Y., Nakanishi T., Nagata T. J.: *Agric. Food Chem.* 47, 4711 (1999).
11. Zardini E.: *Econ. Bot.* 45, 72 (1991).
12. Loyková V., Frček J.: *Dia Zivot* 6, 12 (1996).
13. Frček J., Loyková V.: *Alternativní a maloobjemové plodiny pro zdravou lidskou výživu, Praha 12. listopadu 1996*. Sborník VÚRV, str. 51.
14. Talledo D., Escobar C.: *Genética de las Células Somáticas de Raíces y Tuberosas Andinas. Raíces Andinas, Manual de Capacitación, CIP Lima 2000*. Fascículo 7, 1–20.
15. Quirós C. F., Aliaga R. C., v knize: *Andean Roots and Tubers: Ahipa, Arracacha, Maca and Yacon* (Hermann M., Heller J., ed.), str. 174. IPGRI, Rome 1997.
16. Brako L., Zarucchi J. L., v knize: *Catálogo de las Angiospermas y Gimnospermas del Perú. Monographs in systematic Botany*, sv. 45. Missouri Botanical Garden, Missouri 1996.
17. Girault L., v knize: *Kallawaya. Guérisseurs itinérants des Andes* (Collection Mémoires No. 107). L'Orstom, Paris 1984.
18. Chacón de Popovici G., v knize: *La importancia de Lepidium peruvianum („Maca“) en la alimentacion y salud del ser humano y animal 2,000 anos antes y desputes del Cristo y en el siglo XXI*. Servicios Gráficos „ROMERO“, Lima 1997.
19. Quirós C. F., Epperson A., Hu J. H., Holle M.: *Econ. Bot.* 50, 216 (1996).
20. Toledo J., Dehal P., Jarrin F., Hu J., Hermann M., Al-Shehbaz I., Quiros C. F.: *Ann. Bot.* 82, 525 (1998).
21. Anonym: <http://www.frozenfish.com/maca.htm>
22. Garay Canales O.: *Cultivo de la Maca*. INIA, Lima 1995.
23. Dini A., Migliuolo G., Rastrelli L., Saturnino P., Schettino O.: *Food Chem.* 49, 347 (1994).
24. Nieto C.: *Arch. Latinoam. Nutr.* 41, 213 (1991).
25. Anonym: <http://www.hort.purdue.edu>
26. Toul V., v knize: *Tržní zelinářství* (Mareček F., ed.), str. 291. SZN, Praha 1976.
27. Goto K., Fukai K., Hikida J., Nanjo F., Hara Y.: *Biosci. Biotech. Biochem.* 59, 2346 (1995).
28. Zadáč Z.: <http://www.mednet.cz>
29. Mertens G.: *From Quackery to Credibility*. Financial Times Business, London 2000.
30. Asami T., Minamisawa K., Cuchija T., Kanó K., Hori I., Ójama T., Kubota M., Cukihashi T.: *Jpn. J. Soil Sci. Plant. Nutr.* 62, 621 (1991).
31. Fukai K., Ohno S., Goto K., Nanjo F., Hara Y.: *Soil Sci. Plant Nutr.* 43, 171 (1997).
32. Benchekroun M., Amzile J., El Yachoui M., El Haloui N. E., Prevost J.: *Belg. J. Bot.* 128, 90 (1995).
33. Cukihashi T., v knize: *Kiseki no kenkô jasai jâkon*. Kosaïdo Books, Tokio 1999.
34. Takasugi M., Masuda T.: *Phytochemistry* 43, 1019 (1996).

35. Kakuta H., Seki T., Hashidoko Y., Mizutani J. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 56, 1562 (1992).
36. Barrero A. F., Oltra J. E., Cerdá-Olmedo E., Ávalos J., Justicia J.: *J. Nat. Prod.* 64, 222 (2001).
37. Velikova M., Bankova V., Tsvetkova I., Kujumgiev A., Marcucci M. C.: *Fitoterapia* 71, 693 (2001).
38. Inoue A., Tamogami S., Kato H., Nakazato Y., Akiyama M., Kodama O., Akatsuka T., Hashidoko Y.: *Phytochemistry* 39, 845 (1995).
39. Bohlmann F., Knoll K. H., Robinson H., Kong R. M.: *Phytochemistry* 19, 107 (1980).
40. Tak H. Y., Fronczek F. R., Vargas D., Fischer N. H.: *Spectrosc. Lett.* 27, 1481 (1994).
41. Bohlmann F., Knoll K. H., Robinson H., Kong R. M.: *Phytochemistry* 19, 973 (1980).
42. Castro V., Jakupovic J., Dominiguez X. A.: *Phytochemistry* 28, 2727 (1989).
43. Bork P. M., Schmitz M. L., Kuhnt M., Esher C., Heinrich M.: *FEBS Lett.* 402, 85 (1997).
44. Beutler J. A., Cardellina J. H. I., Lin C. M., Hamel E., Cragg G. M., Boyd M. R.: *BioMed. Chem. Lett.* 3, 581 (1993).
45. Bhakuni R. S., Jain D. C., Sharma R. P., Kumar S.: *Curr. Sci.* 80, 35 (2001).
46. Beekman A. C., Wierenga P. K., Woerdenbag H. J., Van Uden W., Pras N., Konings A. W. T., El-Ferally F. S., Galal A. M., Wikström H. V.: *Planta Med.* 64, 615 (1998).
47. Stevens K. L., Riopelle R. J., Wong R. Y.: *J. Nat. Prod.* 53, 218 (1990).
48. Zidorn C., Stuppner H., Tienfenthaler M., Konwalinka G.: *J. Nat. Prod.* 62, 984 (1999).
49. Anonym: <http://www.ssc.upemm.edu>
50. Aliaga E.C., Aliaga R.C., v knize: *Guia para el cultivo, aprovechamiento y conservacion de la maca, Lepidium meyenii Walpers*. Convenio Andres Bello, Santafé de Bogotá 1998.
51. Bruneton J., v knize: *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*. Intercept, Hampshire 1995.
52. Kresánek J., Krejča J., v knize: *Atlas léčivých rostlín a lesných plodov*. Vydavateľstvo Osveta, Martin 1977.
53. Anonym: <http://www.yaconcha.com>
54. Frček J., Psotová J., Šimánek V.: *Výživa rostlín, kvalitativní produkce a zpracovatelské využití, MZLU Brno 29.–30.6.1999*. Sborník, str. 300.
55. Aybar M. J., Sánchez Riera A. N., Grau A., Sánchez S. S.: *J. Ethnopharm.* 74, 125 (2001).
56. Gutierrez C.: <http://www.peruonline.net>
57. Anonym: <http://naturalhealthconsult.com/Monographs/maca.html>
58. Anonym: <http://www.macaroot.com>
59. Canales M., Aguilar J., Prada A., Marcelo A., Huaman C., Carbajal L.: *Arch. Latinoam. Nutr.* 50, 126 (2000).
60. Vyhlaška č. 23/2001 Sb. Ministerstva zemědělství, kterou se stanoví druhy potravin určené pro zvláštní výživu a způsob jejich použití.

K. Valentová^a, J. Frček^b, and J. Ulrichová^a (^a*Institute of Medical Chemistry and Biochemistry, Faculty of Medicine, Palacky University, Olomouc*, ^b*Potato Research Institute, Havlíčkův Brod*): **Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) and Maca (*Lepidium meyenii*), Traditional Andean Crops as New Functional Foods on the European Market**

Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) and maca (*Lepidium meyenii*) are traditional crops of the original population of Peru, which are also used in traditional medicine. However, these plants are little known in Europe and Northern America, although they can be cultivated in the climatic conditions of these regions. This article is a review of their botanical aspects, their growing in the Czech Republic, composition and structure of main constituents, and biological activity. These plants are already on European market as prospective functional foods and nutraceuticals for use in certain risk groups of population.

Firma Rießner-Gase s.r.o. ve Zdicích

hledá

VŠ – chemika

pro oblast technické plyny, specializace kalibrační plyny

Školení, studijní semináře a pracovní pobyty budou v naší mateřské firmě v Lichtenfels, SRN. Předpokládáme velmi dobrou znalost němčiny. Nabízíme velmi dobré platové podmínky. Nástup ihned.



V případě Vašeho zájmu nám zašlete životopis v němčině na:

e-mail: riessner-gase@telecom.cz nebo
fax: 0311/686660 k rukám paní Ing. Pojezná
telefon: 0311/686147

RESVERATROL

JAN ŠMIDRKAL^a, VLADIMÍR FILIP^a,
KAREL MELZUCH^b, IRENA HANZLÍKOVÁ^b,
DANIELA BUCKIOVÁ^c a BOHDAN KRÍSA^d

^aÚstav technologie mléka a tuků, ^bÚstav kvasné chemie a bioinženýrství, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^cÚstav experimentální medicíny Akademie věd České republiky, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4, ^dKatedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Benátská 2, 128 01 Praha 2
e-mail: Jan.Smidrkal@vscht.cz

Došlo dne: 2.XI.2000

Klíčová slova: resveratrol, pinosylvin, viniferiny, stilbeny, antioxidanty, víno

Prolog

„Soudím, že muži i ženy, kteří pravidelně pijí malé množství alkoholu, jsou méně náchylní k nemocím a mají menší úmrtnost na srdeční onemocnění a vůbec menší úmrtnost ze všech příčin než ti, kdo trvale abstnují.“ Tato slova pronesl osmaosmdesátiletý emeritní profesor Oxfordské univerzity Sir Richard Doll roku 1991 na kongresu v australském Sydney. Jeho slova nikdo nezpochybnil, neboť právě tento gentleman, který je váženou autoritou v oboru medicíny, nezvratně prokázal souvislost kouření a rakoviny plic.

Tato slova jistě potěší tu (zřejmě značnou) část lidské populace, která je s alkoholem (ethanolem) zcela kompatibilní. Sir Richard vlastně uvedl na pravou míru slova jednoho z průkopníků tohoto oboru dietologie, Hoga Foga z filmu Limonádový Joe, který již před řadou let pronesl okřídlenou větu: „Alkohol podávaný v malých dávkách neškodí v jakémkoli množství“.

Dalším obecným důvodem, proč pít alkoholu (míněno vína) nemůže být příliš škodlivé, může být Darwinova teorie, která praví, že živé organismy se buď přizpůsobí okolním podmínkám, nebo vyhytnou. Lidstvo pije víno po tisíciletí (údajně 6000 let) a nevyhynulo. Tato myšlenka logicky dovedena do důsledků vede k závěru, že pokud se lidstvo pít vína přizpůsobilo, je abstinence vlastně škodlivá, jak je uvedeno shora.

Autoři nijak nepodceňují dietologii a rady pro zdravou výživu, ale pamatují řadu doporučení, že se má jíst to či ono, a za několik let se se stejnou jistotou tvrdilo, že tomu tak úplně není, nebo dokonce je tomu právě naopak.

Obsah

1. Úvod
2. Výskyt v přírodě
3. Chemická struktura
4. Funkce v rostlině
5. Biosyntéza resveratrolu
6. Izolace resveratrolu
7. Syntéza resveratrolu
8. Praktické využití resveratrolu v současnosti
9. Závěr

1. Úvod

Zájem o sledování výskytu resveratrolu byl podmíněn existencí tzv. „francouzského paradoxu“^{1,2}. Bylo zjištěno a statisticky dokázáno, že v určitých částech Francie byla nižší četnost úmrtí na onemocnění koronárních tepen (infarktu myokardu), a to navzdory tomu, že spotřeba tuků byla vysoká. Konzumace vína byla jedním z faktorů, kterým bylo možno vysvětlit nízkou úmrtnost na onemocnění věnčitých tepen. Tato skutečnost vedla k domněnce, že požívání vína může působit proti účinkům diety s vysokým obsahem tuků, a omezit tak možnost vzniku a rozsah onemocnění věnčitých tepen. V současné době řada pracovišť testuje biologické vlastnosti resveratrolu od antioxidačních vlastností³ a vlivu na aterosklerozu a kardiovaskulární choroby^{4–7} až po antimutagenní efekt⁸ a chemoprevenci⁹ nádorových onemocnění. V řadě případů bylo dosaženo pozoruhodných výsledků.

Komplexnější poznatky o resveratrolu byly získány v osmdesátých letech minulého století, kdy přístrojové vybavení (zejména HPLC) umožnilo sledování jeho výskytu a koncentrace ve vinné révě, *Vitis vinifera* L. (*Vitaceae*)^{10–22}. Následně byly zkoumány biologické vlastnosti resveratrolu a v řadě studií bylo prokázáno, že resveratrol jakožto polyfenol přírodního původu je biologicky aktivní, má výrazné antioxidační vlastnosti a pohlcuje volné radikály. Obecně platí, že rostlinné polyfenoly jako sloučeniny s antioxidačními vlastnostmi inhibují zhoubné nádorové bujení. Kromě toho je resveratrol patrně jednou z hlavních složek rostlinných extraktů, které jsou využívány v orientální medicíně k léčení srdečních a nádorových onemocnění.

2. Výskyt v přírodě

Resveratrol byl poprvé izolován z podzemní části kýchavice velkokvěté, *Veratrum grandiflorum* A. Gray (*Liliaceae*)²³. Resveratrol byl dále nalezen ve více než 72 rostlinných druzích, které patří systematicky do 31 rodů a 12 čeledí (je pochopitelné, že se zdokonalováním analytických metod se počty rostlinných druhů obsahujících resveratrol zvyšují). Řada těchto rostlin je běžnou součástí lidské diety, např. vinné hrozny (a z nich víno jako nápoj), řada druhů zeleniny a ořechy (např. arašídů). Poměrně bohatým a rozšířeným zdrojem res-

veratrolu jsou právě hrozny révy vinné. Střední koncentrace resveratrolu v červených vínech je cca 2–6 mg.l⁻¹, v bílých vínech je jeho koncentrace nižší, cca 0,2–0,8 mg.l⁻¹ (cit.^{19,24}).

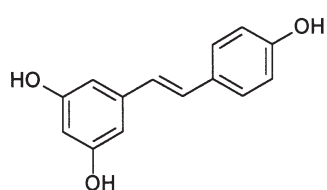
Koncentrace resveratrolu v běžně konzumovaných potravinách v České republice (stanoveno v roce 2000) je uvedena v tabulce I (cit.²⁵). Z tabulky je patrné, že množství 1 mg resveratrolu je obsaženo v 0,4 až 2,5 kg uvedených zelenin. Z hlediska obsahu resveratrolu je vhodné pro konzumaci zejména červené zelí, brokolice nebo červená řepa, neboť 0,5 kg těchto zelenin se sní spíše než 0,5 kg arašídů. Červená vína obsahují 2–6 mg.l⁻¹ resveratrolu, tedy 1 mg resveratrolu je obsažen v 0,17–0,50 l červeného vína. Optimální je patrné kombinace zeleniny a vína, což odpovídá výše uvedeným stravovacím zvykům Francouzů.

3. Chemická struktura

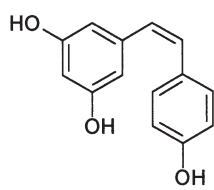
Resveratrol (triviální název) je svou strukturou 3,4',5-trihydroxystilben (*I*). Z jeho struktury je zřejmé, že mohou

existovat dva geometrické isomery, *trans-Ia* a *cis-Ib*. V rostlinném materiálu se obvykle vyskytuje směs obou isomerů, většinou převažuje *trans*-isomer. Resveratrol se vyskytuje rovněž ve formě glukosidů¹, β-glukosyloxy skupina je vázána buď v poloze 3-(triviální název piceid) *II*, nebo v poloze 4'-(resveratrolosid), od obou typů je znám *trans*- i *cis*-isomer*.

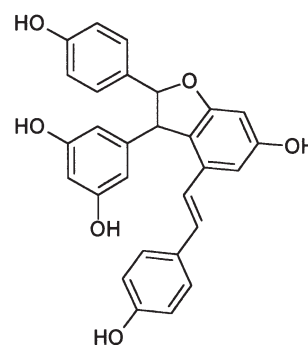
Kromě toho jsou v rostlinném materiálu přítomny oligomery (tedy přesně dehydrooligomery) resveratrolu, tzv. konstitutivní stilbeny¹, dimer resveratrolu ε-viniferin (*Ic*) a trimer α-viniferin (*Id*). Uvedené oligomery resveratrolu nejsou jediné, v poslední době byla popsána čínskými autory^{26,27} řada analogických oligomerů resveratrolu, amurensiny H (*Ie*) a G z podzemní části révy amurské, *Vitis amurensis* Rupr. (*Vitaceae*). Amurensin H je vlastně dehydro-ε-viniferin, tj. oxidační produkt ε-viniferinu. Podobně japonský autoři²⁸ izolovali z loubince trojlaločného, *Parthenocissus tricuspidata* Sieb et Zucc. (*Fabaceae*, dříve *Leguminosae*) dimer isoampelopsin F a francouzští autoři izolovali z *Cissus quadrangularis* L. (*Cissaceae*) další tři dimery, které nazvali quadrangularin A, B a C (cit.²⁹).



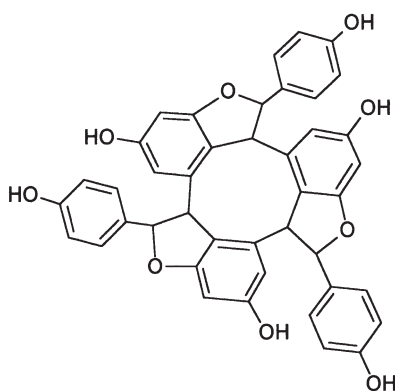
trans-resveratrol, *Ia*



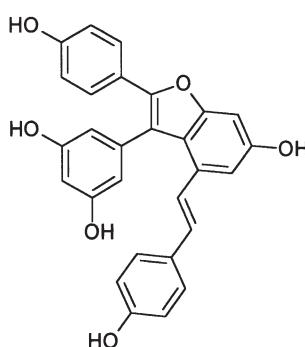
cis-resveratrol, *Ib*



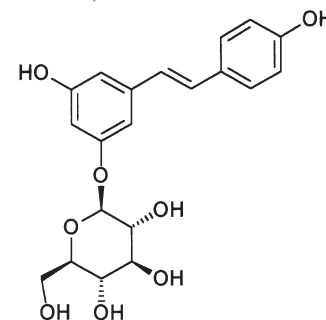
ε-viniferin, *Ic*



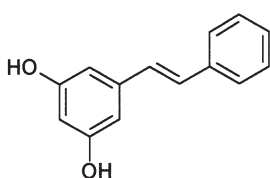
α-viniferin, *Id*



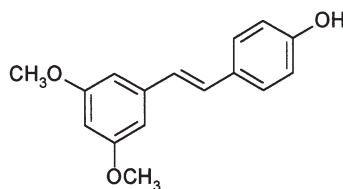
amurensin, *Ie*



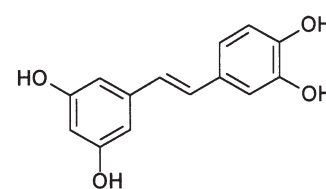
piceid, *II*



pinosylvin, *III*



pterostilben, *IV*

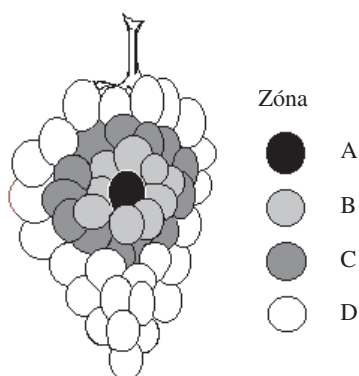


piceatannol, *VIII*

* V textu je užíván jak triviální název resveratrol, tak i systematický název 3,4',5-trihydroxystilben (*I*). Pokud není v názvu sloučeniny uvedeno, o jaký stereoisomer se jedná (citovaná literatura geometrické uspořádání neuvádí), je míněn *trans*-, tedy (*E*)-isomer.

Tabulka I
Koncentrace resveratrolu v běžných druzích potravin

Rostlina	Latinské jméno rostliny (čeleď)	Resveratrol [mg.kg ⁻¹ _{sus.}]	Sušina [%]	Resveratrol [mg.kg ⁻¹]	Množství [kg] obsahující 1 mg res- veratolu
Zelí čínské	<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>chinensis</i> (Brassicaceae)	9	5	0,5	2,2
Kapusta hlávková	<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i> (Brassicaceae)	7	14	1,0	1,0
Kapusta růžičková	<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>gemmifera</i> (Brassicaceae)	15	17	2,6	0,4
Zelí červené	<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i> convar. <i>rubra</i> (Brassicaceae)	15	16	2,4	0,4
Zelí bílé	<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i> convar. <i>alba</i> (Brassicaceae)	8	7	0,6	1,8
Brokolice	<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>italica</i> (Brassicaceae)	15	12	1,8	0,6
Čekanka	<i>Cichorium intybus</i> L. var. <i>foliosum</i> (Cichoriaceae)	20	5	1,0	1,0
Petržel naťová	<i>Petroselinum hortense</i> L. (Daucaceae)	5	19	1,0	1,1
Mrkev karotka	<i>Daucus carota</i> L. (Daucaceae)	4	10	0,4	2,5
Červená řepa	<i>Beta vulgaris</i> L. (Chenopodiaceae)	8	22	1,8	0,6
Česnek	<i>Allium sativum</i> L. (Liliaceae)	2	29	0,6	1,7
Cibule žlutá	<i>Allium cepa</i> L. (Liliaceae)	17	9	1,5	0,7
Cibule červená	<i>Allium cepa</i> L. (Liliaceae)	12	9	1,1	0,9
Podzemnice olejná	<i>Arachis hypogaea</i> L. (Fabaceae)	2	94	1,9	0,5
Čajovník čínský	<i>Thea sinensis</i> L. (Theaceae)	1	94	0,9	1,1



Obr. 1. Hrozen révy vinné napadený plísní *Botrytis cinerea*

Čínští autoři připravili amurensin H (*Ie*) oxidací resveratrolu chloridem železitým²⁶. Je možné, že analogicky při izolaci těchto sloučenin z rostlin, kde jsou obvykle přítomny v katalytickém množství železité ionty, dochází k oxidaci resveratrolu na některé z výše uvedených dimerů a trimerů.

Výše uvedené dimery a trimery jsou tedy oxidační produkty resveratrolu. Otázkou však je, zda vznikají oxidací resveratrolu v rostlině (tedy jsou obsahovou látkou rostliny), nebo zda některé z nich vznikly až oxidací resveratrolu během zpracování rostlinného materiálu, a jsou to tedy artefakty.

4. Funkce v rostlině

Resveratrol lze zařadit mezi fytoalexiny, což jsou sekundární metabolity rostlin, které se začínou tvořit *de novo* nebo ve zvýšené míře jako odpověď na stres (mechanické poškození, UV záření, ozon) nebo po napadení rostliny nepatogenními

Tabulka II
Koncentrace resveratrolu ve slupkách hroznu 48 h po napadení plísní *Botrytis cinerea*

Zóna (obr. 1)	<i>Trans</i> -resveratrol [mg.kg ⁻¹]		
	Pinot	Chardonnay	Gamay
A	6	2	6
B	28	6	16
C	22	4	9
D	20	2	9

Hodnoty jsou zaokrouhleny, přesnost stanovení je cca 20 % rel.

nebo avirulentními bakteriemi, viry či houbami. Některé fytoalexiny mají antibakteriální nebo antifungální účinnost, jiné jsou pro danou infekci neúčinné; nejsou tedy ekvivalentní protilátkám, které vyšší organismy tvoří po infekci.

Fyziologická funkce resveratrolu v rostlinách není stále zcela jasná. Tvorba fytoalexinů (*trans*-resveratrolu a ϵ -viniferinu) je jedním z mechanismů rezistence buňky. Při napadení révy vinné plísní (např. *Botrytis cinerea* či *Plasmopara viticola*)^{10–15,20} nebo po expozici UV zářením^{16,17} se začínou rychle tvořit a akumulovat fytoalexiny, maximální koncentrace *trans*-resveratrolu je dosaženo po 24–96 h od expozice, poté jeho koncentrace klesá a po cca 16 dnech se ustálí na původním stavu.

Při napadení hroznu révy vinné plísní *Botrytis cinerea* lze pozorovat, jak rostlina vytváří resveratrolovou bariéru okolo napadeného místa^{1,22} (obr. 1). V místě napadení (zóna A) je koncentrace resveratrolu nízká, je možné, že plíseň rozkládá fytoalexin, jehož působení je vystavena. Maximální koncentrace resveratrolu (cca 4× vyšší než v napadeném místě) je

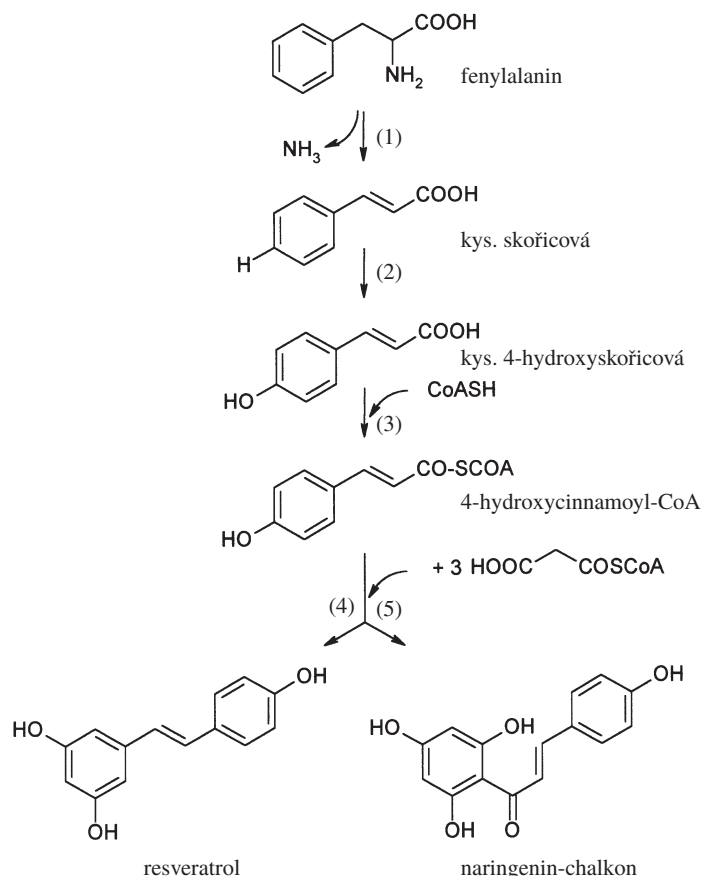


Schéma 1. Biosyntéza resveratrolu. Reakce jsou katalyzovány těmito enzymy: 1) fenylalanin amonium-lyasa (EC 4.3.1.5), systematický název: L-fenylalanin amonium-lyasa, 2) cinnamát-4-hydroxylasa (EC 1.14.13.11), systematický název: *trans*-cinnamát, NADPH:kyslík-oxidoreduktasa (4-hydroxylující), 3) 4-kumarát-CoA ligasa (AMP) (EC 6.2.1.12), systematický název: 4-kumarát: CoA ligasa (AMP), 4) trihydroxystilben syntasa, nebo resveratrol syntasa (EC 2.3.1.95), systematický název: malonyl-CoA: 4-kumaroyl-CoA, malonyl transferasa (cyklizující), 5) naringenin-chalcon syntasa, nebo chalcon syntasa (EC 2.3.1.74), systematický název: malonyl-CoA:4-kumaroyl-CoA, malonyl transferasa (cyklizující)

v sousední zóně B (nabízí se přirovnání sanitární kordon), se zvyšující se vzdáleností od centra napadení pak koncentrace zvolna klesá. Koncentrace resveratrolu v jednotlivých zónách je uvedena v tabulce II. Podobná bariéra se rovněž vytváří kolem napadeného místa listu révy vinné¹².

Je pravděpodobné, že ve zralých hroznech je syntéza *trans*-resveratrolu nebo jeho glykosidu nějakým způsobem iniciována. Kromě výše uvedených faktorů i mechanické poškození slupky bobulí indukuje i u neinfikovaných hroznů syntézu fytoalexinů, zřejmě jako preventivní ochranu před napadením plísňemi. Předpokládá se, že zdrojem *trans*-resveratrolu ve víně (jako nápoji) jsou polyfenolické sloučeniny (konstitutivní stilbeny, tedy viniferiny), extrahované ze slupek bobulí, zbytků třepin a stonků, ze kterých vzniká *trans*-resveratrol během dalších procesů.

5. Biosyntéza resveratrolu

Původním prekurzorem pro biosyntézu¹ resveratrolu (schéma 1) jsou glykosidy, ze kterých vzniká nejprve Shikimatovou cestou fenylalanin. Fenylalanin je fenylalanin amonium-ly-

sou přeměněn na kyselinu skořicovou, která je pak oxidována cinnamát-4-hydroxylasou na kyselinu 4-hydroxyskořicovou. Z této skořicové kyseliny vzniká reakcí s volným CoA za působení specifické CoA ligasy 4-hydroxycinnamoyl-CoA, ze kterého kondenzací s třemi molekulami malonyl CoA (vzniká karboxylací acetylkoenzymu A) za působení resveratrol syntasy se v řadě druhů čeledi *Vitaceae* syntetizuje resveratrol, přičemž se uvolňují čtyři molekuly oxidu uhličitého.

Rostliny čeledi *Vitaceae* mají kromě stilben syntasy k dispozici ještě jeden enzym, chalcon syntasu, která katalyzuje kondenzaci 4-hydroxycinnamoyl-CoA se třemi molekulami malonyl-CoA, při které se však uvolňují pouze tři molekuly oxidu uhličitého a jejímž produktem je naringenin-chalkon, ze kterého pak dalšími reakcemi vznikají flavonoidy. Skupina flavonoidů zahrnuje taniny a anthocyaniny, které způsobují hořkost, resp. pigmentaci slupky zralých hroznů.

Zajímavé je, že v řadě druhů borovic (např. borovice lesní, *Pinus sylvestris* L. (*Pinaceae*)) je kyselina skořicová konvertována jinou ligasou na cinnamoyl-CoA, ze kterého pak analogickým způsobem vzniká pinosylvin ((*E*)-3,5-dihydroxystilben, III), který, stejně jako resveratrol, působí jako fytoalexinový fungicid v jádře dřeva¹.

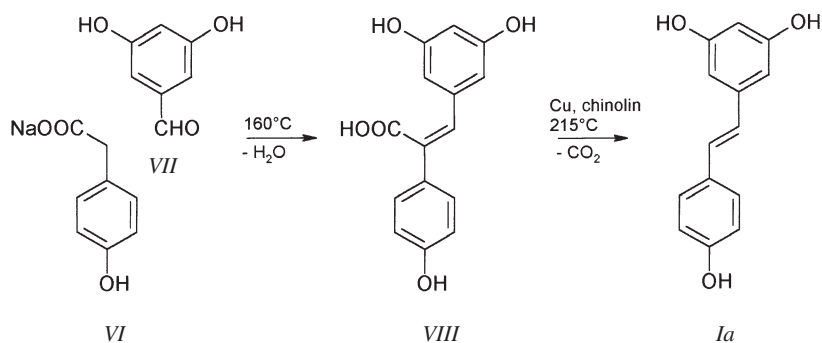


Schéma 2. Syntéza resveratrolu podle Spätha

6. Izolace resveratrolu

Jak je uvedeno v kapitole 2, koncentrace resveratrolu ve víně jako nápoji je cca 2 mg.l^{-1} , tj. 2 g.m^{-3} . I když jeho koncentrace je ve slupkách bobulí, zbytcích třapin a stoncích vyšší ($4\text{--}40 \text{ mg.kg}^{-1}$ čerstvého materiálu), jeho získání jako chemicky čistého individua je poměrně obtížné, neboť je doprovázen řadou dalších sloučenin obdobné struktury. Čistý resveratrol byl pro experimentální účely získáván izolací z rostlinného materiálu, často z rdesna kadeřavého, *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. (*Polygonaceae*)^{30,31}, nebo z peruánské *Cassia quinquangulata* Rich. (*Caesalpiniaceae*)⁹, kde z 1 kg drogy bylo získáno 30 mg resveratrolu. V současnosti se pro experimenty spíše používá resveratrolu získaného synteticky (viz další kapitola).

Resveratrol jako antioxidant je citlivý na působení vzdušného kyslíku, takže izolace z přírodního materiálu je poměrně pracná. Ostatně kauzální otázkou zůstává, proč resveratrol jako potravní doplněk z rostlinného materiálu izolovat, když je možno hrozny révy vinné nebo zeleninu konzumovat jako takové v čerstvém stavu nebo pít víno jako nápoj.

7. Syntéza resveratrolu

Takaoka²³ izoloval resveratrol (b.t. 261°C) z podzemní části kýchavice velkokvěté, *Veratrum grandiflorum* A. Gray (*Liliaceae*). Určil jej jako fenolickou sloučeninu a připravil z ní methylací resveratroltrimethylether (V, b.t. $56\text{--}57^\circ \text{C}$), který oxidací oxidem chromovým poskytl kyselinu 3,5-dimethoxybenzoovou a kyselinu 4-methoxybenzoovou. Na základě struktury těchto rozkladných produktů určil resveratrol jako 3,4',5-trihydroxystilben (I). Späth se spolupracovníky^{32–35}, který se zabýval konstitucí a syntézou přírodních stilbenů, např. pterostilbenu (4'-hydroxy-3,5-dimethoxystilbenu, IV) izolovaného z červeného santalového dřeva *Pterocarpus santalinoides* l'Herit (*Fabaceae*), připravil z pterostilbenu IV methylether (b.t. $56\text{--}57^\circ \text{C}$), který byl totožný s trimethyletherem resveratrolu (V), a tak byla ještě jednou potvrzena struktura pterostilbenu IV i struktura resveratrolu.

Späth³⁴ syntetizoval resveratrol kondenzací natrium-2-(4-hydroxyfenyl)-acetátu (VI) a 3,5-dihydroxybenzaldehydu (VII) a následnou dekarboxylací vzniklé stilbenkarboxylové kyseliny VIII (schéma 2). Obdobným způsobem syntetizoval Späth³⁵ i pinosylvin (III).

Po těchto klasických průkopnických pracích japonských

a rakouských autorů uplynulo téměř půl století, než studium působení fytoalexinů v révě vinné vyvolalo potřebu většího množství čistého resveratrolu jako substance. Izolace z rostlinného materiálu je pracná, jak bylo uvedeno výše, tímto způsobem se za vynaložení přiměřeného množství práce dá v laboratorním měřítku připravit resveratrol v množství $0,1\text{--}1,0 \text{ g}$. Kromě toho se jako výchozí suroviny používá poměrně exotického rostlinného materiálu. Rovněž není znám vhodný přírodní či syntetický meziprodukt, který by se dal na resveratrol snadno chemicky transformovat. Jako jediný způsob přípravy resveratrolu zbývá tedy totální syntéza.

Fytoalexiny se obvykle studují tam, kde roste vinná réva a je následně rozvinuta výroba vína jako nápoje. Je tedy pochopitelné, že první novější syntetické studie pocházejí od španělských autorů³⁶ z Barcelony (Moreno-Mañas a Pleixats), neboť Španělsko je země vína, stejně jako Francie a Itálie. Jako výchozí látky bylo použito kyseliny dehydroacetové (3-acetyl-4-hydroxy-6-methylpyran-2-on, IX), která byla převedena na orcinol (5-methylbenzen-1,3-diol, X). Orcinol (X) byl nejprve acetylován acetanhydridem na diacetylorcinol, ten pak byl následně bromován *N*-bromsukcinimidem v tetrachlormethanu na 5-brommethylbenzen-1,3-diyl-diacetát (XI). Reakcí XI s trifenyfosfinem byl připraven 3,5-diacetoxybenzyl-trifenyfosfonium-bromid (XII), z něhož reakcí s methanolem za katalýzy *p*-TsOH (podle Reimanna³⁷) připraven odpovídající dihydroxyderivát XIII, a ten Wittigovou reakcí s 4-(trimethylsilyloxy)-benzaldehydem poskytl *trans*-resveratrol (Ia) v 10 % výtěžku (schéma 3). Postup podle Moreno-Mañase a Pleixatse použili i francouzští autoři, Jeandet a spol.³⁸

Je popsána řada způsobů provedení Wittigovy reakce. Moreno-Mañas použil jako bázi fenyllithium v trojnásobném molárním přebytku v etheru (2 moly fenyllithia reagují s $-\text{OH}$ skupinami fosfoniové soli XIII). Japonští autoři³⁹, kteří použili pro Wittigovu syntézu methoxysloučenin (3,5-dimethoxybenzaldehydu, XIV a trifenyl-4-methoxybenzyl-fosfonium-bromidu XV), zvolili jako bázi kalium-*tert*-butoxid v ekvimolárním množství v tetrahydrofuranu. Produktem Wittigovy reakce byla směs (*E*)- a (*Z*)-isomeru 3,4',5-trimethoxystilbenu (*Va* a *Vb*) v poměru 48:52, celkový výtěžek reakce byl 99 %. Směs isomerů *Va* a *Vb* byla isomerizována za katalýzy difenylsulfidem na čistý (*E*)-isomer *Va*, a ten byl demetylován bromidem boritým na *trans*-resveratrol (Ia).

Wittigovu-Hornerovu reakci pro syntézu resveratrolu aplikoval profesor Cushman se spolupracovníky⁴⁰. Jako výchozí sloučeniny použil benzyloxyderiváty. I v tomto případě vzniká

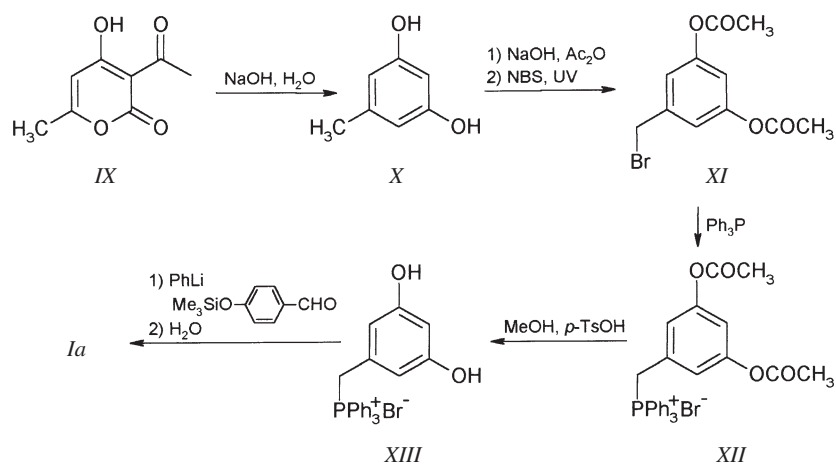


Schéma 3. Syntéza resveratrolu podle Moreno-Mañase a Pleixatse

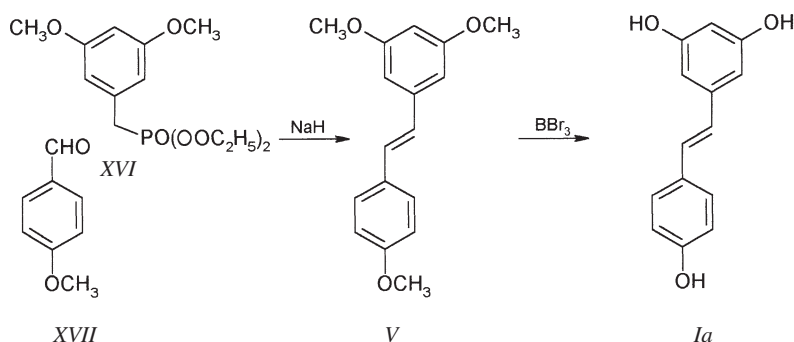


Schéma 4. Syntéza resveratrolu Wittigovou-Hornerovou reakcí

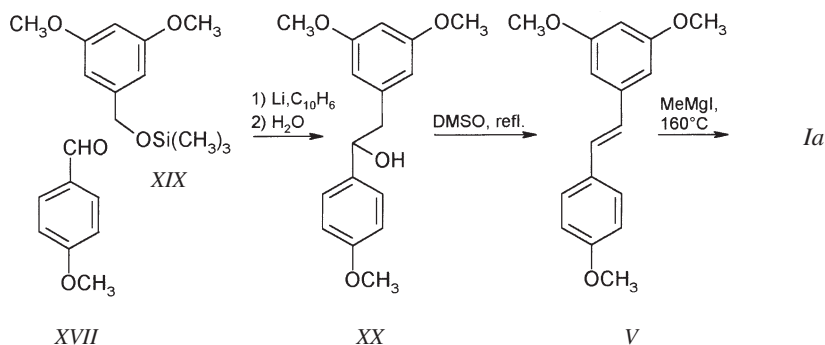


Schéma 5. Syntéza resveratrolu dle Alonsa a spol.

směs (*E*)- a (*Z*)-isomerů, izolován byl pouze (*E*)-isomer (výťažek 76 %). Benzylskupiny byly odštěpeny působením chloridu hlinitého v přítomnosti dimethylanilinu a *trans*-resveratrol (*Ia*) byl získán ve výtěžku 69 %. Analogicky byla Wittigova-Hornerova metoda užita německými autory⁴¹, čínskými autory⁴² a českými autory⁴³ (schéma 4), kde reakcí diethyl-3,5-dimethoxybenzylfosfonátu (*XVI*) a 4-methoxybenzaldehydu (*XVII*) byl připraven (*E*)-trimethylether *V*, a ten byl demetylován bromidem boritým na *trans*-resveratrol (*Ia*). Analogicky byl tímto způsobem připraven pinosylvin (*III*) (cit.⁴⁴) a piceatannol (*XVIII*) (cit.⁴⁰).

Španělští autoři Alonso a spol.⁴⁵ publikovali originální syntézu resveratrolu (schéma 5), jejímž klíčovým stupněm je reakce (3,5-dimethoxybenzyl)-trimethylsilyletheru (*XIX*) a 4-methoxybenzaldehydu (*XVII*) na hydroxysloučeninu (*XX*), ze které následnou dehydratací v dimethylsulfoxidu za varu vzniká (*E*)-3,4',5-trimethoxystilben (*V*) (vzniká pouze *E*-isomer), a ten demethylací methylmagnesiumjodidem (molární poměr 1:20) při 100–160 °C poskytne *trans*-resveratrol (*Ia*).

Je popsána i syntéza glykosidu resveratrolu⁴⁶ (schéma 6). Piceid, tedy (*E*)-3-(β -D-glucopyranosyloxy)-4',5-dihydroxystilben (*II*) byl připraven následujícím způsobem. Wittigovou

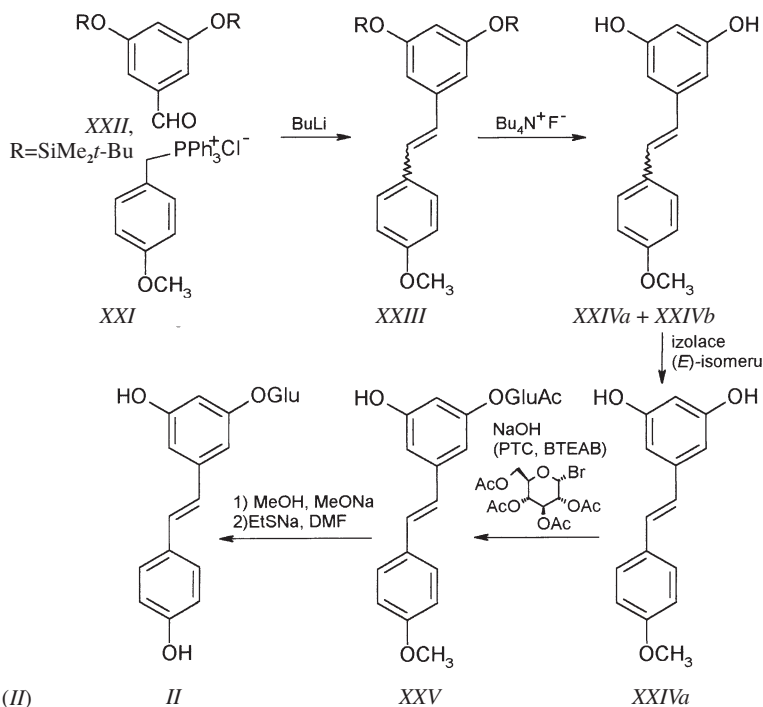


Schéma 6. Syntéza piceidu (II)

reakcí trifenyl-4-methoxybenzylfosfonium-chloridu (XXI) a 3,5-bis-(*t*-butyldimethylsilyloxy)-benzaldehydu (XXII) byl získán XXIII (směs (*Z/E*)-isomeru v poměru 2,3:1). Desilylací XXIII tetrabutylamonium-fluoridem vznikla směs XXIVa a XXIVb, ze které byl izolován (*E*)-3,5-dihydroxy-4'-methoxystilben (XXIVa). Z dihydroxystilbenu XXIVa byla reakcí s 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-glukopyranosyl-bromidem za podmínek fázové katalýzy připravena směs acetylmonglukosidu XXV a acetyldiglukosidu. Acetylmonglukosid XXV byl izolován, deacetylován methoxidem sodným v methanolu na monglukosid, který byl demethylován natrium-ethanthioátem na piceid (II).

Lze říci, že totální syntéza resveratrolu není složitá, spíše je pracná a zdlohouvá a některé výchozí sloučeniny (zvláště 3,5-disubstituované) jsou obtížněji dostupné. To je také důvod, proč cena komerčně nabízeného resveratrolu je na úrovni cca 20 000,- Kč.g⁻¹) (cit.⁴⁷).

8. Praktické využití resveratrolu v současnosti

V USA se v současné době nabízí řada preparátů obsahujících buď čistý resveratrol, nebo směs polyfenolů z vinných hroznů, často v kombinaci s extraktem z jader vinných hroznů. Přípravky jsou deklarovány jako potravinové fortifikační doplňky.

Přípravek LifePath[®] 50 (cit.⁴⁸) obsahuje extrakt z jader hroznů (50 mg), dále koncentrát bioflavonoidů a extrakt z červeného vína, který je uveden jako resveratrol, obsah resveratrolu však není deklarován (cena 180 kapslí je 104 \$). U přípravku jsou uváděny antioxidační, antimutagenní a protizánětlivé účinky. MaxiLife Resveratrol (cit.⁴⁹) je deklarován jako antioxidant s obsahem čistého resveratrolu (60 kapslí za 18 \$). Přípravek ResVerin[™] (cit.⁵⁰) je deklarován jako čistý resveratrol s antioxidačními a chemopreventivními účinky.

Přípravek Resveratrol (cit.⁵¹) je roztok resveratrolu (obsah resveratrolu není udán) v 11 % alkoholu, láhev o obsahu 32 oz (není jasné, zda se jedná o „fluid ounce“ tj. 28,413 ml či „ounce apothecaries“ tj. 31,1035 g), tj. cca 0,9 l, se nabízí za 14,95 \$ a je určena na 1 týden (kvalitní červené víno má stejný obsah alkoholu a obsahuje také resveratrol, pozn. aut.).

Vitamins, po poznání jejich významu pro výživu, byly nejprve podávány v lékové formě jako doplňky k výživě a následně pak byly aplikovány v kosmetice. Stejně tak je tomu s resveratolem. Jak je uvedeno výše, preparáty pro výživu s resveratolem se již nabízejí. Kosmetické přípravky s resveratolem na trhu ještě nejsou, ale přední světová francouzská firma L'ORÉAL již podala patentové přihlášky na použití hydroxystilbenů (zmíněn je resveratrol) v kosmetických přípravcích⁵²⁻⁵⁴.

9. Závěr

Biologické účinky resveratrolu a dalších antioxidantů se v současné době intenzivně studují. Konzumace potravin obsahujících resveratrol (tedy zeleniny) je zcela jistě zdraví prospěšná, jako ostatně byla i předtím, než bylo zjištěno, že obsahuje resveratrol.

Určitým pokrokem nepochybně je, že na základě výsledků řady studií se ukázalo pití vína v rozumném množství spíše zdravé než škodlivé. Tento fakt jistě přivítají konzumenti vína i jeho výrobci.

Lze předpokládat, že během několika let se resveratrol stane běžnou složkou komerčních multivitaminových preparátů a bude tak dlouho propagován jako nezbytný pro lidské zdraví, než se objeví něco nového stejně nezbytného. Rovněž není vyloučeno, že se stane i účinnou složkou nového léčiva.

Projekt je podporován grantem GA ČR 525/99/1338.

LITERATURA

1. Soleas G. J., Diamandis E. P., Goldberg D. M.: *Clin. Biochem.* 30, 91 (1997).
2. Soleas G. J., Diamandis E. P., Goldberg D. M.: *J. Clin. Lab. Anal.* 11, 287 (1997).
3. Kimura Y., Ohminami H., Okuda H., Baba K., Kozawa K., Arichi S.: *J. Med. Plant Res.* 49, 51 (1983).
4. Arichi S., Kimura Y., Okuda H., Baba K., Kozawa M., Arichi S.: *Chem. Pharm. Bull.* 30, 1766 (1982).
5. Frankel E. N., Waterhouse A. L., Teissedre P. L.: *J. Agric. Food Chem.* 43, 890 (1995).
6. Pace-Asciak C. R., Hahn S., Diamandis E. P., Soleas G., Goldberg D. M.: *Clin. Chim. Acta* 235, 207 (1995).
7. Pace-Asciak C. R., Rounova O., Hahn S. E., Diamandis E. P., Goldberg D. M.: *Clin. Chim. Acta* 246, 163 (1996).
8. Uenobe F., Nakamura S., Miyazawa M.: *Mutat. Res.* 373, 197 (1997).
9. Jang M., Cai L., Udeani G. O., Slowing K. V., Thomas C. F., Beecher C. W. W., Fong H. H. S., Farnsworth N. R., Kinghorn A. D., Mehta R. G., Moon R. C., Pezzuto J. M.: *Science* 275, 218 (1997).
10. Langcake P., Pryce R. J.: *Physiol. Plant Pathol.* 9, 77 (1976).
11. Langcake P., Cornford C. A., Pryce R. J.: *Phytochemistry* 18, 1025 (1979).
12. Langcake P., McCarthy W. V.: *Vitis* 18, 244 (1979).
13. Langcake P.: *Physiol. Plant Pathol.* 18, 213 (1981).
14. Pool R. M., Creasy L. L., Frackelton A. S.: *Vitis* 20, 136 (1981).
15. Barlass M., Miller R. M., Douglas T. J.: *Am. J. Enol. Vitic.* 38, 65 (1987).
16. Fritzemeier K.-H., Kindl H.: *Planta* 151, 48 (1981).
17. Creasy L. L., Coffee M.: *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 113, 230 (1988).
18. Hoos G., Blaich R.: *J. Phytopathol.* 129, 102 (1990).
19. Siemann E. H., Creasy L. L.: *Am. J. Enol. Vitic.* 43, 49 (1992).
20. Krpeš C.: *Vinohrad* 1993, 21.
21. Jeandet P., Bessis R., Sbaghi M., Meunier P., Trollat P.: *Am. J. Enol. Vitic.* 46, 1 (1995).
22. Jeandet P., Bessis R., Sbaghi M., Meunier P.: *J. Phytopathol.* 143, 135 (1995).
23. Takaoka M.: *J. Faculty Sci., Hokkaido Imp. Univ. Ser. III*, 3, 1 (1940); citováno dle: Späth E., Kromp K.: *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 74, 189 (1941) a Siemann E. H., Creasy L. L.: *Am. J. Enol. Vitic.* 43, 49 (1992).
24. Hanzlíková I.: *Diplomová práce*. Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT, Praha 1999.
25. Blahová R.: *Diplomová práce*. Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT, Praha 2000.
26. Huang K. S., Lin M., Wang Y. H.: *Chin. Chem. Lett.* 10, 817 (1999); *Chem. Abstr.* 132, 78410 (2000).
27. Huang K. S., Lin M., Yu L. N., Kong M.: *Chin. Chem. Lett.* 10, 775 (1999); *Chem. Abstr.* 132, 76063 (2000).
28. Tanaka T., Ohyama M., Morimoto K., Asai F., Iinuma M.: *Phytochemistry* 48, 1241 (1998).
29. Adesanya S. A., Nia R., Martin M.-T., Boukamcha N., Montagnac A., Paies M.: *J. Nat. Prod.* 62, 1694 (1995).
30. Hata K., Kozawa M., Baba K.: *Yakugaku Zasshi.* 95, 211 (1975).
31. Kimura Y., Ohminami H., Okuda H., Baba K., Kozawa K., Arichi S.: *J. Med. Plant Res.* 49, 51 (1983).
32. Nonomura S., Kanagawa H., Makimoto A.: *Yakugaku Zasshi* 83, 983 (1963), citováno dle: Arichi S., Kimura Y., Okuda H., Baba K., Kozawa M., Arichi S.: *Chem. Pharm. Bull.* 30, 1766 (1982).
33. Späth E., Schläger J.: *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 73, 881 (1940).
34. Späth E., Kromp K.: *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 74, 189 (1941).
35. Späth E., Kromp K.: *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 74, 867 (1941).
36. Späth E., Liebherr F.: *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 74, 869 (1941).
37. Moreno-Mañas M., Pleixats R.: *An. Quim. Ser. C* 81, 157 (1985).
38. Reimann E.: *Liebigs Ann. Chem.* 750, 109 (1971).
39. Jeandet P., Bessis R., Gautheron B.: *Am. J. Enol. Vitic.* 42, 41 (1991).
40. Ali M. A., Kondo K., Tsuda Y.: *Chem. Pharm. Bull.* 40, 1130 (1992).
41. Thakkar K., Geahlen R. L., Cushman M.: *J. Med. Chem.* 36, 2950 (1993).
42. Meier H., Dullweber U.: *J. Org. Chem.* 62, 4821 (1997).
43. Feng Y. A., Wang L., Zhao Z. Z.: *Chin. Chem. Lett.* 9, 1003 (1998); *Chem. Abstr.* 132, 3275 (2000).
44. Šmidrkal J., Filip V., Melzoch K., Hanzlíková I., Buckiová D., Drašar P.: *Chem. Listy* 93, 727 (1999).
45. Bachelor F. W., Loman A. A., Snowdon L. R.: *Can. J. Chem.* 48, 1554 (1970).
46. Alonso E., Ramón D. J., Yus M.: *J. Org. Chem.* 62, 417 (1997).
47. Orsini F., Pelizzoni F., Bellini B., Miglierini G.: *Carbohydr. Res.* 301, 95 (1997).
48. Sigma Company: firemní bulletin sv. 3, č. 1, Spring 1997.
49. The Enrich Corporation, http://www.enrich.com/us/prod_cat_eng/prod_13620.htm
50. Vitamin Plus, <http://www.vitaminplus.com/cgi-vin/vplus/vplus.exe>
51. Resverin; <http://www.resverin.com/specs.html>
52. Lighthouse Health Products Inc., USA; <http://www.lighthousehealth.com/order.html>
53. Breton L., Pineau N. (Oreal S. A.): FR 2777183A1; *Chem. Abstr.* 132, 26656 (2000).
54. Breton L., Pineau N. (Oreal S. A.): FR 2777184A1; *Chem. Abstr.* 132, 26657 (2000).
55. Breton L., Liviero C. (Oreal S. A.): FR 2777186A1; *Chem. Abstr.* 132, 26659 (2000).

J. Šmidrkal^a, V. Filip^a, K. Melzoch^b, I. Hanzlíková^b, D. Buckiová^c, and B. Křísá^d (^aDepartment of Dairy and Fat Technology, ^bDepartment of Fermentation Chemistry and Bioengineering, Institute of Chemical Technology Prague, ^cInstitute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, ^dDepartment of Botany, Faculty of Science, Charles University, Prague): **Resveratrol**

Resveratrol is the parent compound of a family of compounds exhibiting interesting biological activities. Their discovery, total synthesis, content in wine and some vegetables, and biological properties are discussed in this review.

ČOKOLÁDA A ZDRAVÍ

JANA ČOPIKOVÁ

Ústav chemie a technologie sacharidů, Vysoká škola chemicko-technologická Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6, e-mail: copikovj@vscht.cz

Došlo dne 13.VIII.2001

Klíčová slova: čokoláda, zdraví

Obsah

1. Úvod
2. Flavonoidy v čokoládě a jejich antioxidační účinky
3. Flavonoidy v čokoládě a jejich vliv na imunitní systém
4. Čokoláda a její další účinky
5. Závěr

1. Úvod

Čokoláda je potravinářský výrobek, ve kterém se vynikajícím způsobem spojila vynalézavost tří kontinentů. Kakaovník (*Theobroma cacao*), zdroj kakaových bobů, ze kterých se vyrábí čokoláda, pochází ze severní části Jižní Ameriky¹. Kryštof Kolumbus byl první Evropan, který se seznámil s kakaovými boby. Dne 15. srpna 1502 na své čtvrté a poslední plavbě do Ameriky potkal blízko Hondurasu velkou kanoi, která byla plná produktů určených k obchodování včetně kakaových bobů. Do Evropy na španělský dvůr však jako první přivezl kakaové boby španělský dobyvatel Hernando Cortez o 20 let později.

Původně historikové předpokládali, že Aztékové byli první, kdo zpracovávali kakaové boby a používali je současně jako platidlo. Avšak slovo „kakao“ pochází z jazyka Mayů (obr. 1), kteří obývali dnešní jižní Mexiko a Střední Ameriku a vyskytuje se na jejich nádobách pocházejících z období kolem roku 500 n. l. Je však možné, že kakaové boby už znali Olmekové, předchůdci Mayů. Tyto národy připravovaly z rozdrcených kakaových bobů šlehané nápoje, do kterých přidávali různé přísady podle ročního období, někdy víno, vanilku, skořici a koření čili. Indiáni prý věřili, že kakaový nápoj léčí řadu nemocí a současně měl být i afrodisiakem.

Skutečně první oficiální dodávka kakaových bobů přes Atlantik do Evropy byla historicky zaznamenána z Veracruz do Sevilly roku 1585. Zpočátku byl v Evropě popíjen rovněž nápoj, ve kterém koření čili bylo brzo nahrazeno cukrem. Čokoládový nápoj byl určen jen pro šlechtu a bohaté nejdříve ve Španělsku, ale potom se rychle rozšířil do kaváren celé Evropy.

Záměna čili koření za cukr byla určitě významným vynálezem. Historicky prvním významným zdrojem cukru je třtina cukrová (*Saccharum officinarum*)². Třtina cukrová pochází

z divokých odrůd třtiny na Nové Guinei, avšak první zmínka o jejím cíleném pěstování za účelem získání cukru je z Indie, asi kolem roku 320 n.l. Cukr do Evropy přiváželi Arabové, později v 13. století Benátčané, kteří díky mořeplavci Vasco de Gama ztratili v roce 1498 na tento produkt monopol. Rozsáhlého pěstování dosáhla potom třtina na karibských ostrovech, kam ji dovezl Kryštof Kolumbus. Z řepy cukrové (*Beta vulgaris*) se začal cukr vyrábět začátkem 19. století v Evropě díky Napoleonově bloádě, která bránila dovozu surového třtinového cukru do Evropy.

Takže ke kakaovým bobům pocházejícím z Ameriky a cukru z Asie se připojila vynalézavost Evropanů a začala pomalu vznikat čokoláda tak, jak ji známe dnes. V roce 1828 patentoval holandský výrobce čokolády Conrad J. van Houten lisování kakaového másla z pražených, odslupkovaných a rozdrcených bobů¹. Tím vznikl další produkt, který mletím poskytl kakaový prášek. V roce 1848 Angličan Joseph Storrs Fry vyrobil čokoládu, která vznikla smísením kakaového prášku, kakaového másla a cukru¹. Konečně Švýcar Daniel Peter přišel s nápadem přidávat do čokolády sušené mléko, které v roce 1867 začal vyrábět další Švýcar Henri Nestlé¹. Rudolph Lindt je vynálezcem konšování čokolády a jako první začal používat válcování čokoládové hmoty Franz Stollwerck v Kolíně nad Rýnem¹.

Produktům³ z kakaových bobů byly po celá staletí přisuzovány přímo vynikající vlastnosti. Počátkem 18. století evropští lékaři tvrdili, že čokoládový nápoj má následující účinky na lidský organismus:

- posiluje žaludek,
- zvyšuje smyslnost,
- posiluje činnost mozku,
- tlumí bolest.



Obr. 1. Detail kakaovníku z kresby na zdi v Cacaxtla, Mexiko, 9. století

Dále měla čokoláda posilovat mozek a srdce, tvorbu mateřského mléka, léčit tuberkulózu, syfilis, hemeroidy, bolesti zubů, vředy, parazity, kopřivku, zápal plic, nádory, úplavici, nespavost, obnovovat energii a pomáhat z kocoviny.

Čokoláda je vedle kávy výrobek, do jehož výzkumu se podle literatury investovalo nejvíce finančních prostředků ze všech potravin. V 50. letech byla čokoláda ve Spojených státech amerických považována za nezdravou potravinu, která způsobuje kazivost zubů, akné, zácpu a řadu dalších potíží. Vznikaly spolky, které požadovaly na vládě zákaz reklamy na čokoládu. Tento jev byl způsoben v podstatě puritánstvím Američanů, které jim nedovolovalo užívat bez překážek něco příjemného. Zřejmě otázka čokolády se objevila také tehdy, když se společnost vymanila z chudších let války a mohla si ji bez omezení dopřát. Velcí výrobci v USA se snažili omezení spotřeby čokolády zabránit, a proto investovali obrovské finanční částky do výzkumu s heslem, že nepoznané je třeba objasnit a potom potvrdit nebo vyvrátit. Lékaři a výzkum neprokázali žádné záporné vlastnosti čokolády, a naopak do roku 2001 byla publikována řada prací, která potvrzuje, že čokoláda zabraňuje nekontrolované oxidaci v buňkách, a tím vzniku chronických a dalších nemocí:

- kardiovaskulárních nemocí,
- určitých typů rakovin,
- revmatických chorob,
- Alzheimerovy nemoci,
- Parkinsonovy nemoci.

Při diskusi o prospěšnosti nebo škodlivosti čokolády je třeba si uvědomit, že čokoláda má poměrně vysokou energetickou hodnotu (tab. I). Současně je třeba říci, že běžný spotřebitel není zřejmě schopen spotřebovat větší dávku čokolády najednou nebo větší dávku opakovaně. Průměrná spotřeba čokolády v jednotlivých zemích je poměrně stálá po řadu let (tab. II). Očekává se velký nárůst spotřeby čokolády v těch zemích, kde je možné počítat s velkým hospodářským vzestupem, jako je např. Čína. Ke zvýšení spotřeby čokolády a čokoládových cukrovinek ve vyspělých zemích přispěly změny ve stravovacích návycích, kdy tradiční stolování během pracovního dne bylo nahrazeno jídlem ve spěchu a v chůzi, a k tomu účelu se výborně hodí právě různé čokoládové tyčinky. Tento trend se postupně objevuje ve všech zemích, kde si spotřebitelé mohou čokoládu nebo čokoládové cukrovinky dopřát.

2. Flavonoidy v čokoládě a jejich antioxidační účinky

Při diskusi o obsahu a vlivu určitých látek kakaových bobů na lidský organismus je třeba si uvědomit, že pokud jsou údaje uvedeny pro kakaové boby, potom kakaové boby obsahují asi 12 % slupek, které jsou při výrobě čokolády odstraňovány a jejich složení se od kotyledonů kakaových bobů liší. Pražením a mletím odslupkovaných kakaových bobů vzniká kakaová hmota, která tvoří 47 až 48 % hořké čokolády a pouze 8 až 9 % mléčné čokolády^{6,7}.

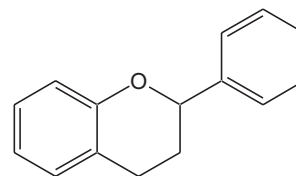
V současné době se mnoho pozornosti věnuje antioxidantům, mezi které patří také flavonoidy. Flavonoidy hrají důležitou roli v obranném mechanismu rostlin, ochraně proti hmyzu a mechanickému poškození. Jejich obsah je v poškozených částech rostlin vyšší než ve zdravých.

Tabulka I
Energetická hodnota čokolády

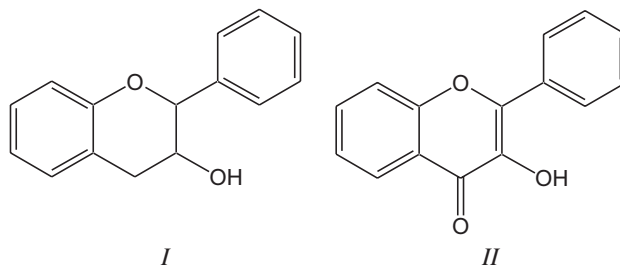
Čokoláda	Tuky [%]	Cukry [%]	Bílkoviny [%]	Energetická hodnota	
				[kJ/100 g]	[kcal/100 g]
Hořká	33	45,5	2,5	2201	489
Mléčná	32	51,5	7,5	2358	524

Tabulka II
Spotřeba čokolády, čokoládových cukrovinek a kakaa v roce 1998 (cit.^{4,5})

Země	kg/obyvatel/rok	Země	kg/obyvatel/rok
Švýcarsko	10,2	Švédsko	5,0
Německo	9,8	Holandsko	4,7
Belgie	9,7	Finsko	4,0
Dánsko	8,9	Španělsko	3,4
UK	8,6	Izrael	3,3
Irsko	8,3	Řecko	2,8
Rakousko	7,8	Portugalsko	1,6
Francie	6,9	Česká republika	4,8
USA	5,5		



Obr. 2. Základní struktura flavonoidů



Obr. 3. Strukturální vzorec flavanolu (I) a flavonolu (II)

Flavonoidní látky neboli flavonoidy⁸ jsou velice rozsáhlou skupinou rostlinných fenolů obsahujících v molekule 2 benzenové kruhy spojené tříuhlíkovým řetězcem. Jedná se o uspořádání C₆-C₃-C₆ (obr. 2). Flavanový skelet se skládá ze dvou benzenových kruhů a kruhu odvozeného od 2H-pyranu. Všechny tři kruhy bývají běžně substituovány hydroxyskupinami nebo methoxyskupinami a jednotlivé deriváty se liší pouze stupněm substituce a oxidace.

Podle stupně oxidace C₃ řetězce se rozeznávají základní struktury flavonoidů:

- katechiny (3-flavanoly),

Tabulka III
Obsah polyfenolických látek v kakaových bobech⁸

Flavanoly	Kakaové boby [g/100 g]	
	sušené	pražené
Katechiny		
(+)-katechin	3,0	
(-)-epikatechin	1,6–2,75	0,03–0,08
(+)-gallokatechin		
(+)-epikatechin	0,25–0,45	0,3–0,5
(+)-epigallokatechin		
Leukokyanidiny		
L ₁ – L ₄	2,7	0,08–0,17
Polymerní leukokyanidiny	2,1–5,4	
Anthokyany		0,01
3- <i>a</i> -L-arabinosyl kyanidin	0,3	
3- <i>b</i> -L-galaktosyl kyanidin	0,1	
Flavanoly		
Kvercetin		
Kvercetin-3-arabinosid		
Kvercetin-3-glukosid		
<i>Celkem fenolické látky</i>		13,5

- leukoathokyanidiny (3,4-flavandioly),
- flavanony,
- flavanonoly,
- flavony,
- flavonoly,
- anthokyanidiny.

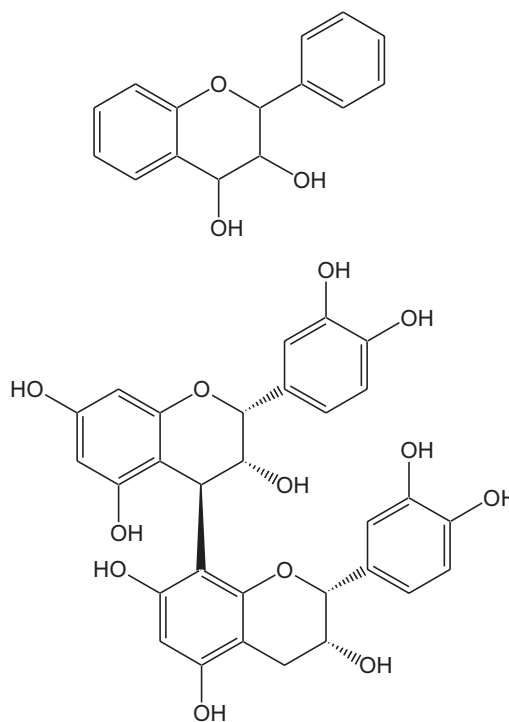
Jak vyplývá z tabulky III, v čokoládě se vyskytují katechiny (3-flavanoly) (obr. 3), ve velmi nízkých koncentracích flavonoly (obr. 3) a jejich glykosidy, leukokyanidiny (obr. 4) a jejich kondenzační produkty a anthokyany, což jsou glykosidy anthokyanidinů (obr. 5). Nejvyšší obsah ze všech flavonoidních látek vykazují (+)-katechin, (-)-epikatechin a (+)-epikatechin (tab. III a obr. 6).

Kondenzací¹⁰ monomerních jednotek flavanolů katalyzovanou oxidoreduktasami vznikají dimerní, vyšší až polymerní proanthokyanidiny. Flavanolové jednotky bývají nejčastěji spojeny vazbami C₄→C₈, méně často vazbami C₄→C₆, C₂→C₇ aj. Proanthokyanidiny odvozené v kruhu B od protokatechové kyseliny (3',4'-dihydroxysubstituované sloučeniny) se podle příslušných leukoanthokyanidinů také nazývají prokyanidiny (obr. 7, 8).

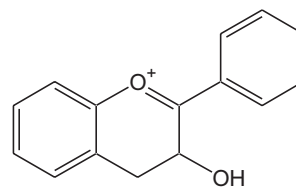
Flavonoidní látky v čokoládě se chovají jako antioxidanty, což je také jeden z důvodů, proč je čokoláda, pokud je skladována při teplotách 18–20 °C, trvanlivá potravina. Její dobrá skladovatelnost, energetická hodnota i chuťové vlastnosti ji určili k tomu, že ji používají sportovci nebo bývá součástí vojenských zásob.

Obsah flavonoidních látek v čokoládě závisí na oblasti původu kakaových bobů (tab. IV) a rozdíly mohou být značné. Flavonoidy v kakaových bobech byly doposud intenzivně studovány jako skupina látek, která přispívá k tvorbě barvy a vůně čokolády. V současné době jsou studovány jejich antiokidační vlastnosti.

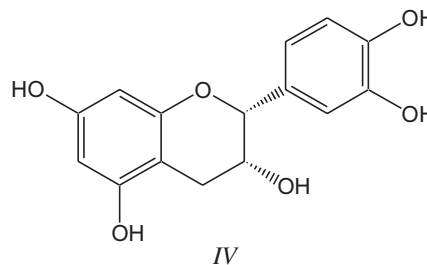
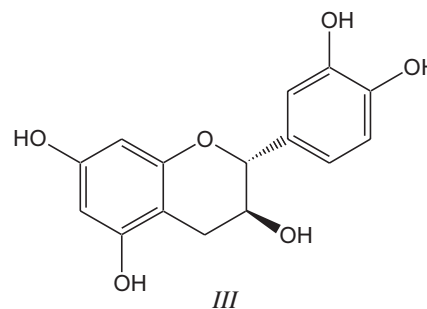
Podle současných poznatků by denní příjem antioxidantů



Obr. 4. Strukturální vzorec leukokyanidinu a jeho dimeru



Obr. 5. Strukturální vzorec anthokyanidinu



Obr. 6. Strukturální vzorec (+)-katechinu (III) a (-)-epikatechinu (IV)

Tabulka IV

Puriny (methylxanthiny) a flavonoidy v kakaovém prášku a v čokoládě³ (g/100 g)

Produkt	Theobromin	Kofein	Katechin	Epikatechin	Σ Flavonoidů	EC50 ^a
Epikatechin Merck	0,00	0,00	0,00	100,00	100,00	21
Čerstvé nefermentované boby	1,93	0,36	0,86	3,14	7,86	78
Kakaový prášek (Sulawesi boby)	2,29	0,25	0,24	1,14	0,35	704
Kakaový prášek (Bahia boby)	2,26	0,31	0,27	0,88	2,79	788
Kakaové slupky	2,18	0,03	0,14	0,74	1,47	845
Kakaový prášek (Ghana boby)	2,26	0,31	0,13	0,44	1,40	975
Kakaový prášek (Pobřeží slonoviny boby)	2,18	0,27	0,18	0,54	1,55	980
Hořká čokoláda	0,42	0,05	0,05	0,11	0,31	1120
Mléčná čokoláda	0,20	0,02	0,03	0,05	0,14	1142

^a g.mol⁻¹ DPPH

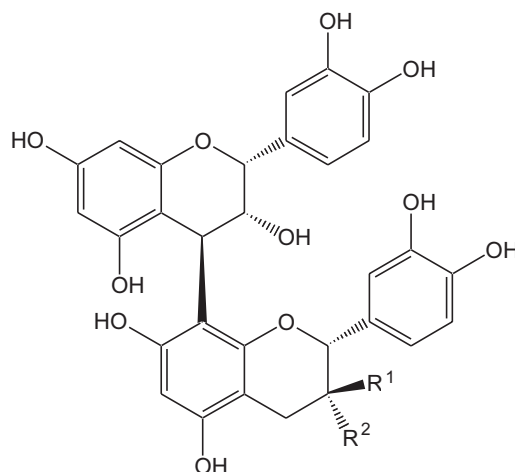
ve vyvážené stravě obsahující zeleninu a čaj měl být 23 mg/osoba/den. Při hodnocení antioxidační aktivity je však také důležitý index EC50, což je počet gramů tukuprosté sušiny, který sníží aktivitu 1 mol DPPH o 50 % (DPPH – to deactivate a particular organic radical) (tab. IV).

Autooxidace mastných kyselin je nejběžnějším typem oxidace za podmínek, které přicházejí v úvahu při zpracování nebo skladování potravin¹¹. V lidském organismu je důležitá a nebezpečná oxidace lipidů v krvi a zejména lipidů typů LDL (low density lipoprotein)¹². Prvním krokem je oxidace LDL. Oxidací LDL vznikají produkty, které jsou využity makrofágy ve stěnách cév. Makrofágy pak v druhém kroku vytváří pěnu obsahující cholesterol a zaplňující cévy. Tak vzniká aterosklerotický plak v srdečních tepnách. Existuje předpoklad, že antioxidanty zabraňují oxidaci LDL, a tím se i vysvětluje tzv. francouzský paradox. Francouzové trpí mnohem méně srdečními chorobami, i když mají podobnou skladbu potravy jako obyvatelé okolní Evropy. Vyznačují se však tím, že mají vyšší spotřebu červeného vína. Na dvou skupinách osob^{3,13} bylo měřeno množství antioxidantů absorbovaných z produktů z kakaových bobů a bylo zjištěno, že je vyšší ve srovnání s vínem, čajem a zeleninou.

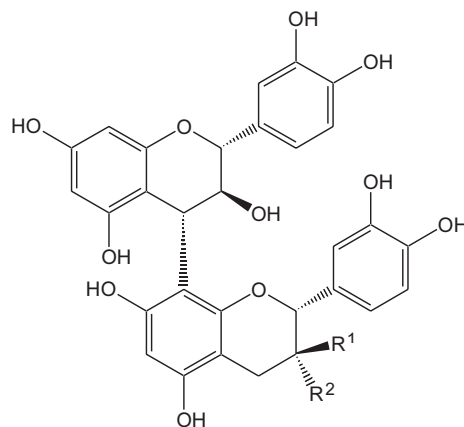
Při oxidaci tuků vznikají radikály^{11,14}, které jak bylo vysvětleno, mohou způsobovat kardiovaskulární nemoci, ale také přispívají ke stárnutí organismu (we simply rust away³). Autooxidace uhlovodíkového řetězce mastných kyselin a také jiných uhlovodíků je radikálová řetězová reakce probíhající ve třech stupních. Její zjednodušený mechanismus je uveden na obrázku 9.

Sled dvou reakcí propagačního stupně se může opakovat jednou, několikrát až mnohokrát. Pokud je koncentrace radikálů v reakčním systému dosti vysoká, je pravděpodobné, že dva volné radikály spolu reagují za vzniku neradikálového, poměrně stabilního produktu, a tím reakční řetěz skončí. Za omezeného přístupu vzduchu jsou hlavními radikály v systému radikály mastné kyseliny (R•) a hlavní terminační reakcí je jejich rekombinace.

Fenolové sloučeniny¹⁵ mohou jako primární antioxidanty interferovat s oxidací lipidů v kompetitivní reakci k propagační fázi autooxidační reakce tím, že reagují s radikály hydroperoxidů (ROO•) nebo alkoxylovými radikály (RO•) a poskytují atom vodíku, čímž přerušují řetězovou radikálovou reakci.



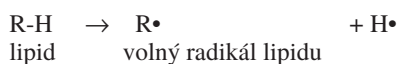
Obr. 7. Prokyanidin B₁, epikatechin-(4β→8)-katechin, R¹ = OH, R₂ = H; Prokyanidin B₂, epikatechin-(4β→8)-katechin, R¹ = H, R₂ = OH



Obr. 8. Prokyanidin B₃, catechin-(4α→8)-katechin, R¹ = OH, R² = H; Prokyanidin B₄, catechin-(4α→8)-katechin, R¹ = H, R² = OH

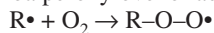
Ve Spojených státech amerických, na univerzitě v Davisu v Kalifornii byla provedena studie¹³ s 23 dospělými ženami a muži, kteří pojídali vyváženou americkou stravu, která

1. Iniciační reakce

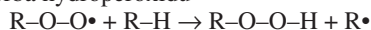


2. Propagační reakce

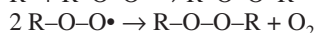
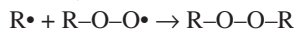
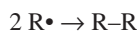
tvorba peroxylového radikálu



tvorba hydroperoxidu



3. Terminační reakce



Obr. 9. Autooxidační řetězová reakce lipidů

zahrnovala hořkou čokoládu a kakaový prášek v množství 40 g/osoba/den. Pokus trval 20 dní a z jeho výsledků vyplynulo, že polyfenoly v čokoládě se dobře absorbují v lidském těle, došlo ke snížení oxidační reaktivity LDL cholesterolu a ke zvýšení hladiny HDL cholesterolu, aniž by byly ovlivněny krevní destičky. Je však třeba poznamenat, že pro spolehlivější závěry by musel trvat zmíněný pokus podstatně delší dobu. Univerzita také publikovala výsledky svých studií *in vitro* i klinických pokusů. Výzkum, který byl podporován společností M&M/Mars a byl zaměřen na oligomerní flavonoidy a prokyanidiny, potvrdil, že čokoláda má řadu biologických účinků, které mohou mít pozitivní vliv na kardiovaskulární nemoci.

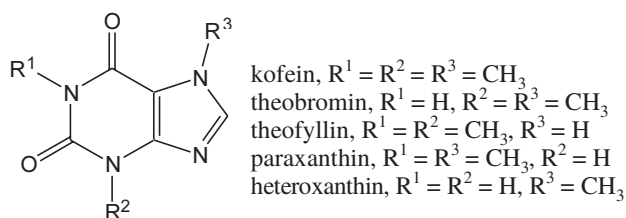
3. Flavonoidy v čokoládě a jejich vliv na imunitní systém

Imunitní systém nás chrání proti napadení patogenními mikroorganismy³, jako jsou bakterie, viry, plísňe a paraziti. Jestliže se systém vychýlí z rovnováhy, může dojít k bouřlivé nadprodukci radikálů kyslíku a peroxidů, což vede k akutnímu zápalu. Reakce se nazývá autoimunitní onemocnění, patří mezi ně i revmatická artritida. Bylo také prokázáno, že extrakt z kakaových bobů, který obsahuje katechiny, pomáhá prevenci žaludečních vředů.

4. Čokoláda a její další účinky

Na již zmíněné univerzitě v Kalifornii se také zabývali^{13,16} vlivem látek z čokolády na srážlivost krve. Některé látky zvyšují srážlivost krve. Proto je některým pacientům, kteří jsou v nebezpečí infarktu, doporučován aspirin. Aspirin mírně inhibuje srážlivost krve. Prokyanidiny^{17,13} z čokolády vykazují podobný vliv na krevní destičky jako aspirin. Prokyanidiny z čokolády mají také pozitivní vliv na ochablé cévy v lidském těle. Pružnost zdravých cév je kontrolována produkcí oxidu dusičného v našem těle. Antioxidanty z čokolády, zvláště vyšší prokyanidiny, pozitivně ovlivňují pružnost cév zvyšováním koncentrace oxidu dusičného.

Dlouhá léta byla čokoláda obviňována z toho, že přispívá ke kazivosti zubů. Bylo však zjištěno, že polyfenolické látky



Obr. 10. Strukturální vzorec methylxanthinů

z čokolády inaktivují enzymy přispívající k tvorbě plaku a ke tvorbě kyselin, a proto čokoláda nezvyšuje kazivost zubů³.

Dobře vyvážená strava s vydatným příjmem antioxidantů může zvýšit věk až o 5 až 10 let. Studie 7841 mužů, kteří studovali na Harvardské univerzitě v letech 1916 až 1950, prokázala, že mezi lety 1988 až 1993 zemřelo 514 mužů, 7,5 % z těch co nekonzumovali sladkosti a 5,9 % z těch, kteří konzumovali sladkosti³.

Vlastně již celou řadu století se kakaovým bobům a produktům z nich přisuzují povzbuzující účinky. Z tabulky IV vyplývá, že kakaový prášek může obsahovat až 2,5 % a hořká čokoláda 0,5 % methylxanthinů (obr. 10). Theobromin, kofein a theofyllin mají na lidský organismus podobný fyziologický vliv^{18,19}, včetně stimulace centrální nervové soustavy (CNS), diuretické účinky, povzbuzují srdeční činnost, uvolňují hladké svalstvo, především plicní svalstvo. Liší se však v intenzitě působení. Kofein má rychlý nárůst účinku na mozek a kosterní svalstvo, theofyllin má nejvyšší účinek na srdce, plíce a ledviny. Theobromin má ze všech methylxanthinů nejnižší účinky, které navíc pomalu nastupují a pomalu odeznívají. Takže připisovat čokoládě povzbuzující účinky na základě obsahu methylxanthinů je problematické a dosud nedostatečně klinicky ověřené.

Čokoláda obsahuje histamin, serotonin, fenylethylamin a anandamid (*N*-arachidonylethanolamin), což je amid ethanolaminu s kyselinou arachidonovou (C 18:4 $\Delta^{5,8,11,14}$). Anandamid patří mezi kanabinoide látky. Při požití kanabinoide látky v potravě se dostane do krve maximálně 5 % původního obsahu, takže kanabinoide účinky čokolády jsou málo pravděpodobné²⁰. V některých člancích se objevuje názor, že fenylethylamin spolu s theobrominem mohou vyvolat účinky spojené s drogou extází. Ve vědeckých studiích se zatím tento názor nepodařilo potvrdit. Důležitý je však serotonin. Serotonin se uvolňuje vlivem světla, sacharosy nebo vlivem příjemných prožitků. Serotonin se uvolňuje v mozku a přenáší signály mezi jednotlivými nervovými vlákny, přechází přes synaptickou štěrbinu (místek mezi dvěma nervovými vlákny) a předává příjemné vzruchy. Například při požití drogy extáze jsou synaptické štěrbiny zaplaveny serotoninem a důsledkem toho může dojít ke zhroucení lidského organismu. Naproti tomu příjemné a přirozené signály uvolní jen takové množství serotoninu, které přejde přes synaptickou štěrbinu, že vyvolá příjemný pocit a vzruch postupně odezní. Občasné požívání vkusně zabalené nebo uložené čokolády v domácím nebo pěkném prostředí zřejmě způsobí jen přirozené uvolnění serotoninu, takže zanechává pouze libé pocity.

Čokoláda má poměrně vysoký obsah hořčíku, kakaový prášek ho obsahuje až 600 mg/100 g. Hořčík reguluje hladinu dopaminu v lidském organismu a dopamin má podobné účinky jako serotonin.

Z literatury tedy vyplývá, že obliba čokolády je spíše záležitost pocitová než chemicky podložená. Existuje termín „chocoholic“ nebo „chocolate craving“. Což volně přeloženo znamená neodolatelnou touhu po čokoládě. Lidé, kteří rádi pojídají čokoládu, vůbec nemusí mít v oblibě ostatní sladkosti, a pokud dodržují zásady energetického příjmu v potravě, pak také nejsou obézní. Porušení každého příjemného zvyku přináší nespokojenost. Stejná situace může nastat i při pocitu, že čokolády je nedostatek.

Pokud byla sledována spotřeba čokolády na statistickém souboru obyvatelstva, pak nebyl pozorován vzestup počtu lidí s nadměrnou hmotností. Také bylo potvrzeno, že lidé, kteří přiznávají, že mají rádi čokoládu, nepatří většinou mezi ty s nadváhou.

Hořká čokoláda většinou neobsahuje cholesterol. Kakaové máslo, které tvoří kolem 35 % obsahu hořké čokolády, má vysoký obsah kyseliny stearové, tudíž patří mezi tuky, které ze všech tuků nejméně zvyšují hladinu cholesterolu a tuků v krvi.

5. Závěr

Někteří lidé, kteří mají rádi čokoládu, trpí pocitem viny. Doufám, že tento článek objasnil některé přednosti čokolády a pomůže všem vychutnat čokoládu s potěšením (zejména hořkou).

Děkuji Mgr. Andreji Sinicovi, PhD. za kreslení chemických struktur.

LITERATURA

1. <http://www.exploratorium.edu/chocolate/>
2. http://wv.essortmnet.com/historysugarca_ruef.htm
3. Kattenberg H.: *Manuf. Conf.* 80, 33 (2000).
4. <http://www.candyusa.org/>
5. <http://www.czso.cz/cz/cisla/1/10/2000/data/excel/09/0912>
6. Čopíková J.: *Technologie čokolády a cukrovinek*. VŠCHT, Praha 1999.
7. Čopíková J., Nováková H., Tůma J., Sinica A.: *Chem. Listy* 95, 288 (2001).
8. Knight I.: *Chocolate and Cocoa*, str. 123. Blackwell Science, Oxford 1999.
9. Velíšek J.: *Chemie potravin*, str. 19/III. OSSIS, Tábor 1999.
10. Velíšek J.: *Chemie potravin*, str. 268/II. OSSIS, Tábor 1999.
11. Velíšek J.: *Chemie potravin*, str. 125/I. OSSIS, Tábor 1999.
12. Knight I.: *Chocolate and Cocoa*, str. 120. Blackwell Science, Oxford 1999.
13. Laning S. J.: *Manuf. Conf.* 80, 119 (2000).
14. Velíšek J.: *Chemie potravin*, str. 126/I. OSSIS, Tábor 1999.
15. Velíšek J.: *Chemie potravin*, str. 160/III. OSSIS, Tábor 1999.
16. Keen C-L., Rein D., Wun T., Pearson H. H., Schmitz R.: *AAAS Presentation, Feb. 19, 2000, Washington, D.C.*
17. Kappagoda C. T.: *AAAS Presentation, Feb. 19, 2000, Washington, D.C.*
18. Knight I.: *Chocolate and Cocoa*, str. 157. Blackwell Science, Oxford 1999.
19. Matissek R.: *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.-A/Food Res. Technol.* 205, 175 (1997).
20. Marzo V. di, Sepe N., Petrocellis L. de, Berger A., Crozier G., Fride E., Mechoulam R.: *Nature* 396, 636 (1999).

J. Čopíková (*Department of Chemistry and Technology of Saccharides, Institute of Chemical Technology, Prague*):
Chocolate and Health

The article deals with the history of processing of cocoa beans and manufacture of chocolate. A survey of world producers of chocolate and its average consumption in developed countries including the Czech Republic are given. The medicine views at various times on the influence of chocolate on the human organism and findings on its effects on human health are mentioned. The findings follow from the research performed in the U.S.A. in recent years. Attention is especially paid to flavonoid substances, whose structure and mechanism of action the human organism are explained. The action of methylxanthines is briefly mentioned. Although chocolate contains stimulants, the research did not confirm a stimulating action of chocolate on the human organism.

SMAŽENÍ POTRAVIN Z POHLEDU CHEMIKA

JAN POKORNÝ a LUCIE PARKÁNYIOVÁ

*Ústav chemie a analýzy potravin, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6
e-mail: jan.pokorny@vscht.cz*

Došlo dne 30.VII.2001

Klíčová slova: fritování, hydrolyza, olej, oxidace, pyrolyza, smažení

Obsah

1. Úvod
2. Fyzikální změny smažicího oleje a smaženého pokrmu
3. Chemické reakce při smažení potravin
4. Tvorba aromatických látek při smažení
5. Nejvhodnější oleje pro fritování
6. Změny složení potravin během smažení
7. Stabilizace smažicího oleje proti oxidaci
8. Stabilizace usmažených výrobků pro delší skladování
9. Závěr

1. Úvod

Smažení potravin je takovým procesem přípravy pokrmů (tj. potravin upravených k požívání), kde přenos tepla od zdroje k potravine je zprostředkován tukem. Smažení patří k nejoblíbenějším způsobům přípravy pokrmů, a to hlavně pro rychlost a jednoduchost, takže jde o způsob přístupný i méně zkušeným kuchařům a kuchařkám. K tomu přistupuje příjemná vůně a chuť smažených pokrmů.

Existují dva způsoby smažení¹: 1. na tenké vrstvě tuku; 2. v hluboké vrstvě tuku (fritování). Prvý způsob je u nás tradiční. Tuk ve vrstvě tlusté 2–5 mm se předeheje na pánvi na teplotu kolem 180 °C. Smažení trvá 5–10 min a použitý tuk se zužitkuje k omaštění vzniklého pokrmu. Druhý způsob – fritování – se u nás rozšířil až v poslední době po zavedení fritéz pro domácnosti, ale v průmyslovém měřítku se tohoto způsobu i u nás užívalo již několik desetiletí. Při tomto postupu je vrstva tuku tlustá 20–150 mm. Tuk se předeheje na 150–180 °C a do tuku se pak vloží smažené potraviny, které v něm plavou. Teplota zprvu klesne o 20–40 °C, ale během smažení opět stoupá. Podle druhu připravovaného pokrmu smažení trvá 2–10 min. Smažicí tuk se použije mnohokrát po sobě. V posledních letech jsou v prodeji pánve na smažení bez tuku. Nejde vlastně o smažení, ale o pražení, ale spotřebitel pečující o svou postavu tento způsob i tak uvítá.

2. Fyzikální změny smažicího oleje a smaženého pokrmu

Během smažení probíhá jednak přenos tepla ze smažicího oleje do smažené potraviny, jednak výměna tuku a vody mezi oběma substráty. Vzhledem ke značnému tepelnému gradientu je přestup tepla velmi rychlý, a proto může být doba přípravy proti jiným tepelným procesům poměrně krátká. Pokud je smažený pokrm objemnější (což je skoro vždy kromě bramborových lupínků a rýžových nudlí), prohřejí se na vyšší teplotu jen povrchové vrstvy pokrmu, kdežto v hlubších vrstvách teplota stěží přesáhne 70–90 °C.

Při styku s přehřátým olejem se z povrchových vrstev odpařuje rychle voda a uniká ve formě vodní páry. Hlavně tímto procesem se smažicí olej ochlazuje. Množství smažené potraviny nesmí být proto příliš velké, jinak se tuk odpařováním vody příliš ochladí, smažení trvá dlouho a usmažený pokrm je méně chutný.

Dalším důležitým procesem je výměna tuku. Hlavně jde o absorpci, kterou usnadňují polární produkty ve smažicím oleji². U potravin na tuk chudých zůstanou po úniku vodní páry póry ve smaženém materiálu, a ty se rychle zaplní tukem³. Proto potraviny s vysokým obsahem vody, jako jsou brambory, zelenina nebo houby, přiberou při smažení mnoho tuku. Tím se sice stanou chutnými, ale obsah energie v hotovém pokrmu je vyšší, než je žádoucí. Proto se např. bramborové hranolky před smažením na povrchu osuší⁴. Jiná možnost je obalování těstíčkem nebo rozšlehanými vejci a strouhankou⁵. Existují také průmyslové výrobky⁶ pro tento účel. Jejich použitím se nasávání tuku sníží asi na polovinu.

Potraviny s vyšším obsahem tuku, např. maso, uzeniny nebo tučné ryby (kapr, sleď, úhoř) naopak mohou část tuku ztratit, nebo proběhne jeho výměna se smažicím tukem⁷. Ten potom po smažení potravin živočišného původu může obsahovat cholesterol nebo rybí lipidy, které pak mohou zhoršovat vlastnosti dalších pokrmů smažených v témž oleji.

Pokud se tuk převážně absorbuje do smaženého pokrmu, musí se jeho úbytek občas kompenzovat čerstvým smažicím tukem. Stává se to často při smažení bramborových hranolků nebo lupínků.

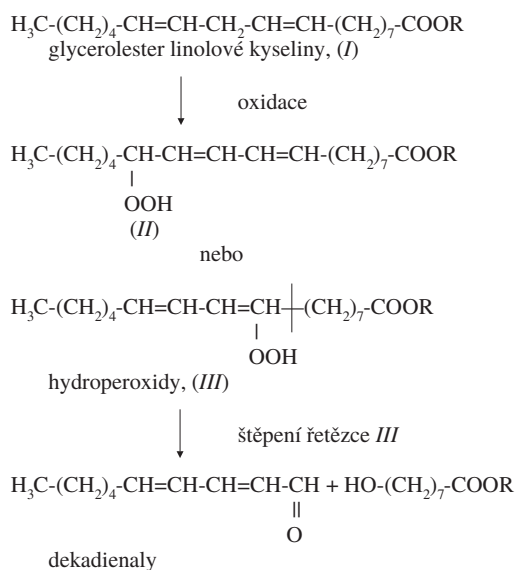
3. Chemické reakce při smažení potravin

Při smažení probíhají ve smažicím oleji tři typy reakcí (tab. I).

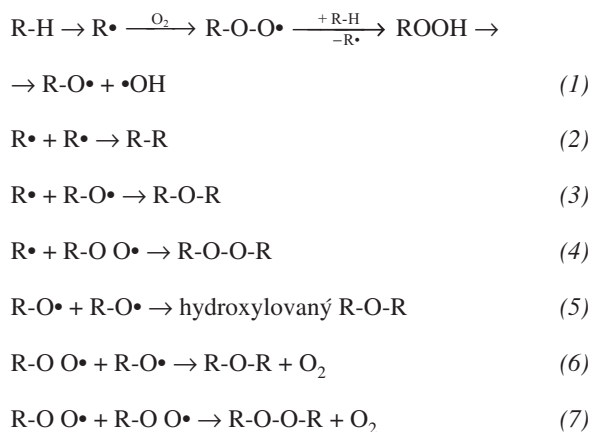
Hydrolyza je rozsáhlejší, než by se mohlo zdát. Působí ji vodní pára uvolněná ze smažené potraviny. Je urychlována přítomností polárních látek v oleji, protože ty přispívají k tvorbě jemné disperze, a tím ke zvětšení styčné plochy obou reaktantů. Přesto je reakce triacylglycerolů na diacylglyceroly a mastné kyseliny poměrně pomalá. Diacylglyceroly se hromadí na mezifázi disperze, takže se rychleji rozkládají na monoacylglyceroly, a ty ještě rychleji na volné mastné kyseliny a glycerol. Volné mastné kyseliny ovlivňují senzorickou

Tabulka I
Hlavní reakce probíhající při smažení potravin

Typ reakce	Reagující		Hlavní produkt reakce
	složka oleje	partnerská složka	
Hydrolytické	esterové skupiny	vodní pára ze smažené potraviny	mastné kyseliny a glycerol
Oxidační	polyenové mastné kyseliny	rozpuštěný kyslík	polární produkty a aromatické složky
Pyrolytické	polární oxidační produkty	a) polární oxidační produkty b) sacharidy a bílkoviny smažené potraviny	polymery a jiné produkty aromatické složky a netěkavé produkty



Obr. 1. Tvorba dekadienalů ve smažicím oleji při smažení potravin



Obr. 2. Tvorba polymerů ve smažicím oleji při smažení potravin

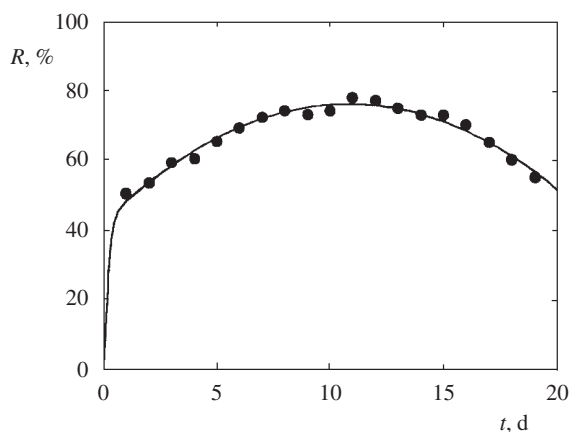
jakost výrobku⁸, ale částečně těkají s vodní parou, takže jejich množství stoupá jen pomalu a nepřesahuje obvykle 2–3 % hmotnosti oleje. Glycerol se při zahřevu dehydratuje na akrolein (propenal), který dráždí oči a sliznice obsluhujícího personálu. K tomu přispívají také páry mastných kyselin, které ovšem částečně vznikají také oxidačními reakcemi⁹.

Další důležitou skupinou reakcí jsou oxidační reakce. Kyslík rozpuštěný v oleji zreaguje již při zahřevu oleje před vlastním smažením, takže další kyslík může pronikat do oleje jen difuzí z atmosféry a v oleji rychle reaguje. Oxidační reakce jsou proto rychlejší u déle používaných olejů, kde přítomnost polárních produktů usnadňuje pění, a tím se zvětšuje styčná plocha mezi vzduchem a olejem¹⁰. Průmyslové smažiče jsou proto konstruovány tak, aby styk horkého oleje se vzduchem byl co nejmenší.

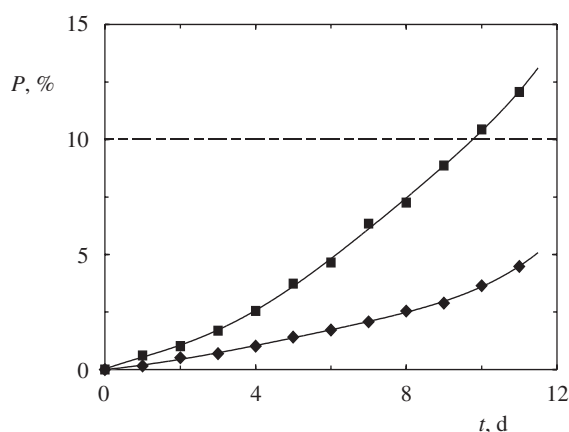
Oxidačními reakcemi se z dvojných vazeb v triacylglycerolech tvoří hydroperoxydy se stejným počtem dvojných vazeb (obr. 1: II a III). Zatímco při skladovacích teplotách reagují prakticky jen vázané dienové a trienové mastné kyseliny, za teplot smažení se oxidují dosti rychle také monoenové mastné kyseliny a dokonce i nasycené mastné kyseliny vázané v oleji¹¹. Hydroperoxydy se ovšem při teplotách smažení rychle rozkládají, takže jejich obsah zřídka přesáhne 1 % hmotnosti.

Část hydroperoxidů se rozkládá na netěkavé reakční produkty, částečně se však při rozkladu štěpí jejich řetězce za vzniku těkavých, sensoricky aktivních produktů s 3–10 atomy uhlíku¹². Ty do značné míry z oleje také těkají do prostoru smažírny.

Ve smažicím oleji se tedy postupně hromadí netěkavé oxidační produkty^{13,14}, hlavně hydroxylové, epoxidové, karboxylové a karboxylové deriváty, které mají také určitý vliv na sensorickou jakost¹⁵. Jakmile obsah těchto polárních produktů dosáhne 25 %, má se olej vyměnit za čerstvý^{16,17}. Z primárních polárních produktů dalšími reakcemi mohou vznikat estery a ethery. Při těchto reakcích se často zvyšuje molekulová hmotnost a vznikají polymery¹⁸ (obr. 2), které za podmínek smažení mívají počet uhlíkových atomů ve vázaných mastných kyselinách o 50–200 % vyšší než v původních triacylglycerolech. Obsah polymerů se během smažení lineárně postupně zvyšuje^{13,17} a při překročení 10 % by se měl olej vyměnit za čerstvý¹⁶. Podle našich zkušeností bývá růst spíše exponenciální, ale jen málo odlišný od lineárního. Mezi koncentrací polárních látek a polymerů existuje průkazný vztah¹⁹.



Obr. 3. Vliv doby smažení na senzoričnou jakost smažených bramborových hranolků; R = senzoričká přijatelnost, t = doba smažení



Obr. 4. Vliv obsahu linolové kyseliny v podzemnicovém oleji na tvorbu polymerů během opakovaného smažení; P = obsah polymerů, t = doba smažení; podzemnicový olej – odrůda: \blacklozenge SunOleic (6 % linolové kyseliny), \blacksquare Virginia (30 % linolové kyseliny); ---- kritická hladina polymerů

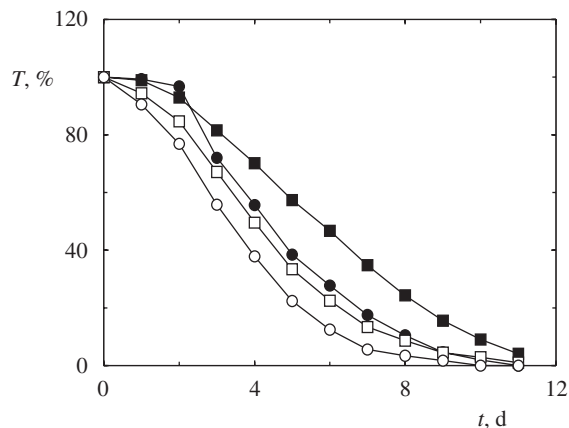
4. Tvorba aromatických látek při smažení

Smažené produkty mají typické aroma, vyvolané hlavně rozkladnými produkty hydroperoxidů linolové kyseliny. Typickými představiteli jsou *cis,trans*- a *trans,trans*-2,4-dekadienaly (obr. 1) a některé nenasycené laktony, v menší míře alkenaly, alkenoly a alkenony^{11,20}. Použitý smažicí olej má tedy vliv na chuť a vůni smaženého produktu²¹. Kromě těchto látek vznikajících z oleje má každý smažený pokrm ještě určité typické aroma, které je dáno smaženou potravinou a odlišuje smažené pokrmy navzájem. U bramborových hranolků je typickou složkou methional, vznikající rozkladem methioninu, a některé pyrony, vznikající reakcemi stop přítomné glukosy s volnými aminokyselinami. U smaženého masa jsou to různé sírné a dusíkaté heterocykly.

Na počátku smažení se oxidační produkty – prekurzory aromatických složek – tvoří jen pomalu a teprve postupně se hromadí oxidační produkty katalyzující další oxidaci. Proto je u zcela čerstvého oleje obsah 2,4-dekadienalů jen malý a smažené aroma slabé. Teprve po několikanásobném použití oleje ke smažení dosáhne obsah pozitivních složek aromatu svého optima a pak se po určitou dobu udržuje kvalita smažených produktů konstantní²². Tento průběh je patrný z obr. 3. Po delší době používání již obsah rozkladných produktů v oleji dosáhne takové výše, že začne působit nepříjemně a senzoričká jakost smaženého produktu klesá. V tu dobu je záhodno olej vyměnit.

5. Nejvhodnější oleje pro fritování

Z výše uvedeného by se dalo předpokládat, že nejvhodnější jsou rostlinné oleje s vysokým obsahem linolové kyseliny, aby vzniklo co nejvíce těkavých oxidačních produktů se smaženou vůní. Takové oleje, např. slunečnicový²³, sójový nebo řepkový, by však vydržely jen krátkou dobu, musely by se často vyměňovat a náklady na smažení by se značně zvýšily. Dobrou smaženou chuť mají výrobky smažené v sádle, ale proti němu jsou námitky z hlediska správné výživy. Podstatně stabilnější jsou při záhřevu částečně ztužené (hydrogenované)



Obr. 5. Vliv obsahu linolové kyseliny v podzemnicovém oleji na rozklad tokoferolů během opakovaného smažení; T = obsah tokoferolů, t = doba smažení; podzemnicový olej – odrůda SunOleic (6 % linolové kyseliny), \bullet α -tokoferol, \blacksquare γ -tokoferol, odrůda Virginia (30 % linolové kyseliny): \circ α -tokoferol, \square γ -tokoferol

oleje²⁴. Jejich nevýhodou ovšem je příliš nízký obsah linolové kyseliny a přítomnost nenasycených isomerních kyselin (např. *trans* kyselin), proti nimž jsou námitky z hlediska výživové hodnoty²⁵. Hydrogenované tuky po ochlazení ztuhnou, což sice nevadí při průmyslovém smažení, protože se smaží nepřetržitě, ale vadí při smažení v domácnostech nebo v menších restauracích, kde se olej mezi použitím nechává vychladnout.

Ideální složení má olivový olej, který obsahuje hlavně vázanou olejovou kyselinu a jen malé množství linolové kyseliny²⁶ (kolem 4–8 %). Je tedy při smažení stálý, a přece udílí smaženým výrobkům příjemnou vůni. Olivový olej je však velmi drahý, proto přicházejí v úvahu spíše nově vyšlechtěné odrůdy sójového, slunečnicového, podzemnicového, řepkového²⁷ a dokonce i lněného oleje s vysokým obsahem olejové kyseliny a s obsahem linolové kyseliny srovnatelným s olivovým olejem. Příkladem jsou naše pokusy²⁸ s tradičním pod-

zemnicovým olejem Virginia (30 % linolové kyseliny) a podzemnicovým olejem z nového kultivaru SunOleic (3–6 % linolové kyseliny). Při opakovaném smažení bramborových hranolků v oleji z kultivaru Virginia stoupá obsah polárních (tab. II) a polymerních podílů (obr. 4) daleko rychleji než v oleji z kultivaru SunOleic a také rozklad tokoferolů (vitaminu E) je rychlejší (obr. 5). Rovněž při dalším skladování jsou výrobky smažené v olejích s vysokým obsahem olejové kyseliny stabilnější²⁹.

Tabulka II

Nárůst obsahu polárních látek (PL) v podzemnicovém oleji během opakovaného smažení

Olej	% PL, den smažení	
	0	11
SunOleic	2,0	9,1
Virginia	2,8	14,2

6. Změny složení potravin během smažení

Při smažení se nemění jen smažicí olej, ale i smažená potravina, ačkoli tyto změny byly daleko méně zkoumány³⁰. Změny obsahu živin mohou být značné^{31,32}, byť byly výraznější jen v povrchových vrstvách. K typickým změnám patří neenzymové hnědnutí přítomných aminokyselin s redukcími cukry³³, které vyvolávají barevné změny na povrchu smažených výrobků³⁴. K hnědnutí mohou také přispívat reakce oxidačních produktů smažicího oleje s aminokyselinami volnými nebo vázanými v bílkovinách přítomných v potravine³⁵. Jako vedlejší produkt vznikají dusíkaté produkty, např. pyraziny, pyrroly, furanové deriváty, furanopyrroly a furanopyraziny, které mají výrazné pražné aroma. Při smažení se rychle rozkládá askorbová kyselina, vitamin E, karoteny a některé další vitaminy^{36,37}. Bílkoviny a jiné složky smažené potraviny inhibují degradaci smažicího oleje³⁸.

Mění se i obsah tak zdanlivě stabilních složek, jako jsou minerální látky. Těkavější částečně uniknou, např. sloučeniny selenu³⁹, které se ovšem mohou také oxidovat v netěkavé sloučeniny. V surovinách použitých ke smažení bývá mnoho chloridu sodného a draselného. Při smažení se postupně hydrolyzují, kyselina chlorovodíková částečně uniká a vzniklý hydroxid sodný nebo draselný vytvoří s volnými mastnými kyselinami alkalická mýdla. Ta podporují pění, a tím i rychlou oxidaci oleje⁴⁰. Některé změny mohou být příznivé, např. vytěkají také některé kontaminanty, např. sloučeniny rtuti.

Uvedenými interakcemi může poněkud klesnout výživová hodnota⁴¹, ale znatelně toxické produkty ve smažených pokrmech nevznikají, pokud se dodrží předepsaná teplota. Na stěnách nádob nad smaženým olejem však může být teplota podstatně vyšší (i více než 300 °C). Za těchto podmínek se z přítomných aminokyselin a bílkovin tvoří stopy polycyklických heterocyklů⁴², které jsou silně karcinogenní⁴³. Vznikají např. v připálených usazeninách nad hladinou oleje. Přicházejí v úvahu spíše při smažení na tenké vrstvě tuku v pánvi nebo při záhřevu bez tuku.

7. Stabilizace smažicího oleje proti oxidaci

Postupnou oxidaci oleje lze zmírňovat použitím antioxidantů, které jsou sice při teplotách smažení mnohem méně účinné než při skladovacích teplotách, ale přece jen oxidaci zpomalují. Musejí se zvolit antioxidanty, které při smažení nevytékají⁴⁴. Proto jsou běžné antioxidanty BHT a BHA neúčinné⁴⁵. Dříve se doporučovaly oligomerní syntetické antioxidanty nebo antioxidanty se substituovanými alkyly, např. s hydroxymethylovou skupinou místo methylové. Dnes se dává přednost přírodním antioxidantům, např. tokoferolům, β-karotenu nebo fyllochinonům⁴⁶, a z jiných přírodních látek pryskyřicím z listů rozmarýny nebo šalvěže^{47,48}. Určitou anti-oxidační účinnost mají také některé steroly (např. avenasteroly⁴⁹), skvalen⁵⁰ a fosfolipidy⁵¹. Výhodné jsou také adsorbenty, které jsou schopny vázat oxidační produkty s prooxidační účinností^{52,53}.

Velmi jednoduchou, a již dávno známou metodou, je přidávání malého množství parafinu⁵⁴, silikonového oleje⁵⁵ nebo lépe siloxanových polymerů do smažicího oleje. Ty vytvoří na jeho povrchu tenkou vrstvičku, která brání přístupu vzdušného kyslíku do smažicího oleje. Siloxany se nevstřebávají stěvní sliznicí a jsou naprosto inertní. Dnes je jejich přísada povolena v EU i u nás.

8. Stabilizace usmažených výrobků pro delší skladování

Po usmažení se často hotové výrobky nekonzumují ihned, ale až po delším skladování. Je tomu tak především u průmyslových výrobků, např. smažených bramborových lupínků. Na jejich povrchu ulpívá tenká vrstvička smažicího oleje. Ten prakticky již neobsahuje žádné přírodní nebo přidané antioxidanty a přítomné polární produkty katalyzují další oxidaci i při nízkých teplotách. Vznikají těkavé látky vyvolávající žluknutí⁵⁶. Proto se smažené pokrmy skladují v inertním plynu nebo v evakuovaných obalech. Jiným řešením je přísada antioxidantů. V tomto případě již nevádí, jestliže jsou těkavé za vyšších teplot. I zde se dnes dává přednost přírodním přísadám. Může to být i rozemleté koření nebo jiná ochucovadla s antioxidačním účinkem.

9. Závěr

Smažení potravin je v poslední době významnou průmyslovou operací a hojně se užívá i v domácnostech. Při dodržení správných postupů nevznikají při smažení toxické produkty a ztráty výživové hodnoty bývají srovnatelné s jinými postupy přípravy pokrmů⁵⁷.

LITERATURA

1. Banks D., v knize: *Deep Frying* (Perkins E. G., Erickson M. D., ed.), str. 1. Technomic, Lancaster 1999.
2. Pinthus E. J., Saguy I. S.: *J. Food Sci.* 59, 804 (1994).
3. Pinthus E. J., Weinberg P., Saguy I. S.: *J. Food Sci.* 60, 767 (1995).
4. Kozempel M. F., Tomasula P. M., Craig Jr. J. C.: *Lebensm.-Wiss. Technol.* 24, 445 (1991).

5. Makinson J. H., Greenfield H., Wong M. L., Wills R. B. H.: *J. Food Comp. Anal.* 1, 93 (1987).
6. Priya R., Singhal R. S., Kulkarni P. R.: *Carbohydr. Polym.* 29, 333 (1996).
7. Sánchez-Muniz F. J., Viejo J. M., Medina R.: *J. Agric. Food Chem.* 40, 2252 (1992).
8. Ledahudec J., Pokorný J.: *Nahrung* 35, 1071 (1991).
9. Márquez-Ruiz G., Dobarganes C.: *J. Sci. Food Agric.* 70, 120 (1996).
10. Gil B., Handel A. P.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* 72, 951 (1995).
11. Pokorný J., v knize: *Flavour Chemistry of Lipid Foods* (Mn D. B., Smouse T. H., ed.), str. 113. AOCS Press, Champaign 1989.
12. Perkins E. G., v knize: *Deep Frying* (Perkins E. G., Erickson M. D., ed.), str. 43. AOCS Press, Champaign 1996.
13. Jansen S. L., Myers M. R., Artz W. E.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* 50, 147 (1973).
14. Chun H.-K., Ho C.-T.: *J. Food Lipids* 4, 239 (1997).
15. Ledahudec J., Pokorný J.: *Nahrung* 37, 97 (1993).
16. Pokorný J.: *Vyz. Potrav.* 50, 101 (1995).
17. Firestone D., v knize: *Deep Frying* (Perkins E. G., Erickson M. D., ed.), str. 323. AOCS Press, Champaign 1996.
18. Paulose M. M., Chang S. S.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* 50, 147 (1973).
19. Sébédio J.-L., Grandgirard A., Septier C., Prevost J.: *Rev. Fr. Corps Gras* 34, 15 (1987).
20. Chang S. S., Peterson R. J., Ho C.-T.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* 55, 718 (1978).
21. Stier R. J. F.: *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 102, 507 (2000).
22. Blumenthal M. M., Stier R. F.: *Trends Food Sci. Technol.* 2, 144 (1991).
23. Romero A., Cuesta C., Sánchez-Muniz F.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* 75, 161 (1998).
24. O'Brien R.: *INFORM* 4, 913 (1993).
25. Erickson D., v knize: *Deep Frying* (Perkins E. G., Erickson M. D., ed.), str. 4. AOCS Press, Champaign 1996.
26. Kochhar S. P.: *INFORM* 11, 642 (2000).
27. Warner K., Mounts T. L.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* 70, 983 (1993).
28. Parkányiová L., Trojáková L., Réblová Z., Zainuddin A., Nguyen H. T. T., Sakurai H., Miyahara M., Pokorný J.: *Czech J. Food Sci.* 18 (Suppl.), 125 (2000).
29. Warner K., Orr P., Parrot L., Glynn M.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* 71, 1117 (1994).
30. Dobarganes C., Márquez-Ruiz G., Velasco J.: *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 102, 521 (2000).
31. Pokorný J.: *Grasas Aceites* 49, 265 (1998).
32. Pokorný J., v knize: *Frying of Food* (Boskou D., Elmadfa I., ed.), str. 69. Technomic, Lancaster 1999.
33. Leszkowiat M. J., Barichello V., Yada R. Y., Coffin R. H., Loughheed E. C., Stanley D. W.: *J. Food Sci.* 53, 281 (1990).
34. Obretenov T. D., Ivanova S. D., Kuntcheva M. J., Somov G. T.: *J. Agric. Food Chem.* 41, 653 (1993).
35. Pokorný J.: *Proc. Food Nutr. Sci.* 5, 421 (1981).
36. Mašková E., Rysová J., Fiedlerová V., Holasová M.: *Potrav. Vedy* 12, 407 (1994).
37. Duda G., Maruszewska M., Kulesza C., Gertig H., Szajkowski Z.: *Bromatol. Chem. Toksykol.* 20, 89 (1987).
38. Pokorný J., Réblová Z.: *Food Technol. Biotechnol.* 37, 139 (1999).
39. Bratakos M. S., Zafiroopoulos T. F., Siskos P. A., Ioannou P. V.: *Int. J. Food Sci. Technol.* 23, 585 (1988).
40. Blumenthal M. M., Stockler J. R.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* 63, 687 (1986).
41. Fillion L., Henry C. J. K.: *Int. J. Food Sci. Nutr.* 49, 157 (1998).
42. Knize M. G., Dolbear F. A., Carroll K. L., Moore D. H., Felton J. S.: *Food Chem. Toxicol.* 32, 595 (1994).
43. Övervik E., Kleman M., Berg I., Gustafsson J. A.: *Carcinogenesis* 10, 2293 (1989).
44. Boskou D., v knize: *Frying of Food* (Boskou D., Elmadfa I., ed.), str. 183. Technomic, Lancaster 1999.
45. Tyagi V. K., Vasishtha A. K.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* 73, 499 (1996).
46. Wagner K.-H., Elmadfa I., v knize: *Frying of Food* (Boskou D., Elmadfa I., ed.), str. 163. Technomic, Basel 1999.
47. Gordon M. H., Kouřimská L.: *J. Sci. Food Agric.* 68, 347 (1995).
48. Réblová Z., Kudrnová J., Trojáková L., Pokorný J.: *J. Food Lipids* 6, 13 (1999).
49. Blekas G., Boskou D., v knize: *Frying of Food* (Boskou D., Elmadfa I., ed.), str. 205. Technomic, Basel 1999.
50. Malecka M.: *Nahrung* 35, 541 (1991).
51. Kouřimská L., Pokorný J., Réblová Z.: *Prehr. Tehnol. Biotechnol. Rev.* 32, 91 (1994).
52. Friedman B.: *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 102, 560 (2000).
53. Gertz C., Klostermann S., Kochhar S. P.: *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 102, 543 (2000).
54. Farag R. S., El-Baroty G. S., Abdel Latif M. S.: *Grasas Aceites* 41, 248 (1990).
55. Ohta S., Nagano S., Nonaka Y., Honda K., Hara Y.: *Yukagaku* 37, 185 (1988).
56. Wu C.-M., Chen S.-Y.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69, 858 (1992).
57. Márquez-Ruiz G., Dobarganes M. C., v knize: *Deep Frying* (Perkins E. G., Erickson M. D., ed.), str. 160. AOCS Press, Champaign 1996.

J. Pokorný and L. Parkányiová (*Department of Food Chemistry and Analysis, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Food Frying from the View of a Chemist**

Frying, especially deep frying in oil, ranks among simple and rapid food preparation techniques. In frying, exchange of water and oil take place. Main chemical reactions are hydrolytic and oxidation processes in frying oil, pyrolytic reactions in surface layers of food, and interactions between lipid oxidation products and proteins or other components of fried food, resulting in the formation of specific flavour. Loss of the nutrition value and health risks due to the oxidized oil are rather low under proper frying conditions.

SLADKOVODNÍ KONTAMINOVANÉ SEDIMENTY JAKO CHEMICKÉ ČASOVANÉ BOMBY

JIŘÍ FAJTL^a, RICHARD TICHÝ^b
a ROSTISLAV LEDVINA^a

^aZemědělská fakulta, ^bBiologická fakulta, Jihočeská univerzita, Studentská 13, 370 05 České Budějovice,
e-mail: fajtl@zf.jcu.cz, fajtl@uek.cas.cz

Došlo dne 30.VI.2000

Klíčová slova: mokřady, sediment, znečištění, retence, toxické kovy, chemická časovaná bomba, acidifikace, sanace, ceny

Obsah

1. Formy znečištění životního prostředí
2. Sediment v anaerobních podmínkách
3. Sediment v aerobních podmínkách
4. Dekontaminace sedimentu
 - 4.1. Imobilizační techniky
 - 4.2. Techniky mobilizující a odstraňující znečištění
 - 4.2.1. Extrakční čištění *in situ*
 - 4.2.2. Elektroreklamační techniky
 - 4.2.3. Klasifikace
 - 4.2.4. Techniky mikrobiálního louhování
 - 4.2.5. Fytoremediační technika
 - 4.3. Ceny vybraných sanačních technik
5. Závěr

1. Formy znečištění životního prostředí

Tlak naší civilizace na životní prostředí se, kromě jiného, projevuje ve zvyšujících se koncentracích nebezpečných látek ve vodách, v půdě, či v potravních řetězcích⁸. Některé, takzvané mikropolutanty, jsou přitom toxické již při velmi nízkých koncentracích, řádově ppm. Jde především o toxické kovy (Cd, Zn, Mn, Hg, Pb atd.) a organické mikropolutanty (PCB, PAH, rezidua pesticidů a ropných látek atd.). Forma jejich výskytu přitom může být bodová: například benzinové pumpy, výpustě a skládky jedovatých odpadů, anebo plošná – rozptýlená po velkých plochách v relativně nízkých, přesto však toxicky významných koncentracích.

Klíčová otázka pro životní prostředí vždy zní, nakolik je takové znečištění pohyblivé a zda dochází k přednostní akumulaci mikropolutantů v nějakých specifických složkách ekosystémů. Velmi častými receptory, tedy místy, kde se mikropolutanty akumulují, jsou sladkovodní sedimenty^{14,56,61}. Takové sedimenty se mohou vyskytovat jak v jezerech, rybnících a řekách, tak i v mokřadech a podobných zaplavených lokalitách. Takovéto lokality vznikají často cíleně i spontánně v blízkosti zdrojů znečištění či v plošně kontaminované kraji-

ně^{14,32,33}. Cílené zakládání mokřadů nebo kořenových čistíren odpadních vod se dokonce často navrhuje jako levná alternativa čištění málo či středně znečištěných vod. Otázkou ovšem zůstává, nakolik bude výsledný mokřadní sediment obsahovat nebezpečné látky.

2. Sediment v anaerobních podmínkách

Sedimenty představují významný receptor znečištění, zůstávají-li v anaerobních podmínkách. Důvody záchytu polutantů v sedimentech jsou především vysoký specifický povrch minerálních částic, vysoký obsah organické hmoty a specifické mikrobiální procesy, probíhající v anaerobním prostředí sedimentů⁶².

Vysoký povrch minerálních částic je významný především pro vazbu elektricky nabitých polutantů, zejména kationtů toxických kovů, jako jsou například Cd, Cu, Hg, Pb, Zn, Mn. Je to proto, že většina přírodních minerálů má na svém povrchu permanentní negativní náboj. Nejjemnější velikostní frakce minerálních částic sedimentu obsahují díky svému vyššímu specifickému povrchu vyšší koncentrace toxických kovů než frakce hrubší⁴³. Tichý a Mejstřík⁵⁶ našli v kontaminovaném sedimentu cca 80 % z celkového obsahu kadmia vázaného právě nejjemnějšími minerálními frakcemi (<0,5 mm). Průběh sorpčních procesů je úzce ovlivňován hodnotami pH. S poklesem hodnot pH jsou kationty kovů desorbovány a uvolňovány do vodné fáze sedimentu³⁰. Vysoký povrch se také uplatňuje při vazbě elektroneutrálních polutantů, zejména organických sloučenin, a to především díky jejich hydrofobnímu charakteru²⁶.

Organická hmota je dalším významným faktorem ve vazbě polutantů na sediment, a to díky svému negativnímu elektrickému náboji umožňujícímu adsorpci, své komplexotvorné aktivitě a částečně hydrofobnímu (vodoodpudivému) povrchu.

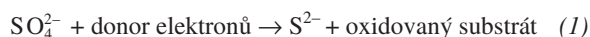
Adsorpční procesy jsou podstatné pro záchyt kationtů (jako je Ni, Cd, Cu, Zn, Mn atd.). Kapacita organické hmoty, především humusových látek, pro sorpci kationtů kovů je v zásadě limitována počtem negativně nabitých funkčních skupin, tedy disociovaných karboxylových skupin a hydroxyskupin⁵¹. Pokles hodnot pH však může vést k desorpci toxických kovů, které přecházejí do vodné fáze sedimentu⁴⁶.

Tvorba komplexů toxických kovů s organickými látkami probíhá ve srovnání s rychlostí adsorpčních procesů⁶ pomaleji. Stabilita vzniklých komplexů se mění podle komplexovaného kationtu, například komplexy Pb^{2+} a Cu^{2+} jsou poutány silněji než Cd^{2+} a Zn^{2+} , a je dále závislá zejména na hodnotách pH (cit.⁵²). Se zvyšujícími se hodnotami pH stoupá stabilita komplexů díky zvyšující se disociaci funkčních skupin, z nich zejména karboxylových⁴⁷.

Hydrofobnost je významná zejména pro záchyt nepolárních organických polutantů, například ropných látek, některých pesticidů, polyaromatických uhlovodíků, polycyklických bifenylylů atd.^{3,24} Vazba organických polutantů na sediment je ovlivněna především množstvím a kvalitou organické

hmoty²⁰. Karickhoff a spol.²⁴ předvedl silnou závislost mezi vazbou hydrofobních organických polutantů na sediment a obsahem organické hmoty. Vliv dalších podmínek na vazbu organických polutantů, jako například pH, je možné pozorovat pouze u některých ionizovatelných organických molekul⁴⁸. Na druhé straně, organické polutanty se častou mohou ze sedimentu uvolňovat působením rozpustných organických látek (dissolved organic carbon: rozpuštěný organický uhlík). Mnozí autoři uvádějí, že vysoké koncentrace rozpuštěného organického uhlíku mohou výrazným způsobem mobilizovat toxické polutanty, jako jsou polyaromatické uhlovodíky, polychlorované bifenylly apod.^{20,21,34}

Třetím významným faktorem v záchytu toxických kovů jsou specifické mikrobiální pochody probíhající v anaerobním prostředí vodních sedimentů, konkrétně proces redukce sulfátů⁶⁵:



Jde o pochod, při němž mikrobiální anaerobní společenstva rozkládají organické látky – jako mastné kyseliny, vyšší alkoholy, meziproducty rozkladu rostlinných a živočišných tkání atd. – a přitom redukuji sulfát na sulfid^{5,37}. Existence sulfidu s sebou přináší dva souběžné efekty:

– Vznikající sulfid vstupuje velmi ochotně do reakce s kationty kovů za vzniku nerozpustných sulfidů kovů, jako je pyrit (FeS_2), chalkopyrit (CuFeS_2), sulfid zinečnatý, kademnatý, rtuťnatý^{12,40}, které se v sedimentu vysráží¹³.

– Díky disociaci vody vzniká ze sulfidu hydrogensulfid, což je provázeno prudkou alkalizací, tedy vzestupem hodnot pH (cit.¹⁹):



Alkalizace prostředí pak vede ke zvýšení retenční schopnosti sedimentu pro toxické kovy⁶³; jednak se zvyšuje sorpce a komplexace, jednak se kovy imobilizují srážením jako uhličitany či hydroxidy¹.

Tím, že sladkovodní sedimenty akumulují toxické látky, se často stávají tzv. chemickou časovanou bombou. Koncept chemické časované bomby zahrnuje řetězec událostí, které mají za následek opožděný a nenadálý výskyt škodlivých efektů, zapříčiněných mobilizací chemických látek v sedimentu doposud pevně fixovaných⁵³. Navíc se v takovém sedimentu projevuje časové zpoždění mezi akumulací a opačnými efekty – mobilizací, a tyto efekty se objevují v časových úsecích poměrně krátkých ve srovnání s předchozí dobou akumulace¹⁵. Jestliže se sediment nachází v anaerobních podmínkách, akumuluje a pevně fixuje polutanty pomocí již dříve popsaných mechanismů, nedochází k jejich louhování do vodního prostředí. Náhlý pokles pH vody však může vést k mobilizaci zejména toxických kationtů kovů²⁵. Částice sedimentu mohou být také unášeny vodním tokem, například při povodňových situacích, a tak bývají transportovány do vzdálených míst oproti původnímu výskytu. Po opadu povodňové vlny se sediment z původně anaerobních podmínek dostává do podmínek aerobních, a ty nastartují aerobní chemické a mikrobiální procesy vedoucí k mobilizaci toxických kovů¹⁰. Podobná situace nastává také po odtěžení a provzdušnění sedimentu z rybníčního dna či říčního koryta, nebo při poklesu vodní hladiny na dané lokalitě¹⁴.

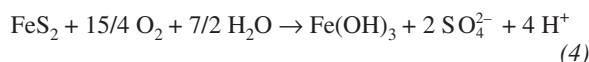
3. Sediment v aerobních podmínkách

Provzdušněním sedimentu se iniciuje řada chemických a mikrobiálních procesů. Nejdůležitějšími z pohledu mobilizace polutantů jsou: oxidace sirtých a železnatých sloučenin a oxidace organické hmoty.

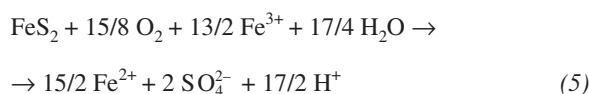
Oxidace sirtých sloučenin, zejména sulfidických, vede k produkci kyseliny sírové^{19,59}:



Obdobně je oxidován i nejběžnější sulfidický minerál, pyrit. Při pH > 2,3 je možné jeho oxidaci popsat takto:



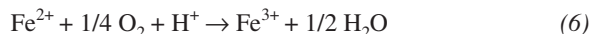
Tato reakce vede k acidifikaci prostředí, hodnoty pH prudce klesají. Při poklesu hodnot pH pod 2,3 je pak pyrit oxidován poněkud odlišným způsobem^{4,11}:



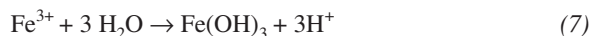
Hlavním důvodem rozdílné stechiometrie oxidace pyritu je zejména měnící se rozpustnost hydroxidu železitého, který se při pH > 2,3 nevyskytuje v roztoku¹³.

K výše uvedeným procesům dochází vždy vlivem spontánní chemické oxidace. Kromě toho však mohou být podstatně urychleny působením některých mikroorganismů, mezi nejznámější bakterie z této skupiny patří například rod *Thiobacillus sp.*²³ Van der Steen a spol.⁵⁰ zaznamenal podstatné zvýšení rychlosti (více než milionkrát) oxidace pyritu mikrobiálním procesem v porovnání s chemickou oxidací. Thiobacily jsou rodem autotrofních až obligátně heterotrofních bakterií, prosperujících v aerobních podmínkách v optimu hodnot pH 1–4 a rozmezí teplot obvykle 15–55 °C (cit.^{39,55}). Jejich výskyt byl však také prokázán v termálních pramenech při teplotách až 80–90 °C (cit.³⁹).

Oxidace železnatého iontu v aerovaném sedimentu probíhá podle reakce²³:



Po disociaci vody tvoří Fe^{3+} ion s OH^- iontem nerozpustný hydroxid železitý, volný H^+ ion pak dále okyseluje sediment²³:



Fe^{3+} ion, díky své vysoké oxidační schopnosti, také provokuje řadu oxidačních procesů, například značně urychluje mikrobiální oxidaci pyritu, reakce (5) (cit.^{11,13}).

Oxidací organické hmoty dochází ke snížení sorpční kapacity sedimentu, což vede k vyplavování sorbovaných a komplexovaných polutantů⁴⁶. Tento proces je pravděpodobně daleko pomalejší ve srovnání s oxidací sulfidů a železnatých iontů.

Aerace sedimentu povede také k degradaci organických polutantů. Tohoto jevu se široce využívá při aerobních dekon-

taminačních technikách, ať už jsou prováděny v suspenzních reaktorech či formou landfarmingu – průmyslového kompostování^{44,45}. Rychlost těchto degradačních procesů je však velmi rozdílná a nemůžeme ji nijak generalizovat. Obecně závisí na stupni provzdušnění, živinových poměrech, teplotě, přítomnosti degradujících mikroorganismů a přítomnosti eventuálních toxinů, potlačujících růst a aktivitu mikroflóry²⁸. Vzhledem k nedostatku patřičných údajů nemůžeme určit obecný vztah mezi uvolňováním a degradací organických polutantů; v dalším textu se zaměřujeme výhradně na toxické kovy.

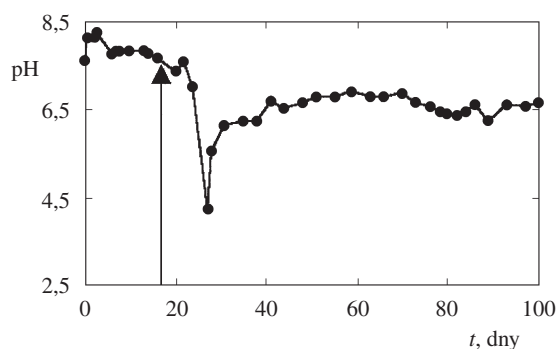
Po provzdušnění kontaminovaného sedimentu tedy dochází, zejména díky oxidaci sulfidických a železnatých sloučenin, k produkci kyseliny či volných vodíkových iontů, což vede k významnému poklesu hodnot pH sedimentu^{4,11,63}. V předchozí práci Fajtl a spol.¹⁴ jsme zjistili, že jen za 9 dní od provzdušnění kontaminovaného, původně anaerobního sedimentu, pocházejícího z mokřadu zatíženého kyselou důlní drenáží, klesla hodnota pH (měřená v perkolované kapalině) z původní hodnoty 7,9 na 4,2 (obr. 1) – šipka ukazuje dobu, kdy byl sediment provzdušněn. Tomuto poklesu pH pak odpovídala zvýšená koncentrace zinku 7 mg.l⁻¹, manganu 0,92 mg.l⁻¹ a železa 55,32 mg.l⁻¹ v kapalně fázi v době pH minima.

Maass a Miehlich²⁹ sledovali chemické chování kontaminovaného sedimentu, pocházejícího z říčního koryta Labe, rovněž po jeho provzdušnění. Zjistili, že v delším časovém horizontu docházelo ke zvyšování koncentrace toxických kovů (zinku a kadmia) ve vodné fázi sedimentu a jejich koncentrace se měnila ve čtyřech různě dlouhých časových etapách (obr. 2). V první etapě klesla vodní hladina a sediment se postupně provzdušnil (doba trvání: několik dní). Ve druhé etapě došlo k plnému rozběhnutí aerobních procesů, majících za následek pokles hodnot pH. Tento pokles pH pak vedl k vyplavování toxických kovů do vodné fáze sedimentu (doba trvání: několik měsíců až roky). Ve třetí etapě probíhaly taktéž aerobní procesy. Redukované sírné a železnaté sloučeniny, nutné pro tvorbu kyseliny, byly však již zcela zoxidované. Další kyselina tedy nevznikala a hodnoty pH se stabilizovaly. Díky procesům neutralizace H⁺ (difúzně-limitovaná absorpce H⁺, rozpouštění solí atd.) mohlo případně dojít i ke zvýšení hodnot pH vedoucích ke stabilizaci či snížení koncentrace kovů v roztoku (doba trvání: 10–20 let). V poslední etapě se začala oxidovat organická hmota, která doposud sorbovala část celkového obsahu těchto kovů. Tím se opět zvyšovala jejich koncentrace v kapalně fázi sedimentu. Sediment se zároveň mírně okyseloval.

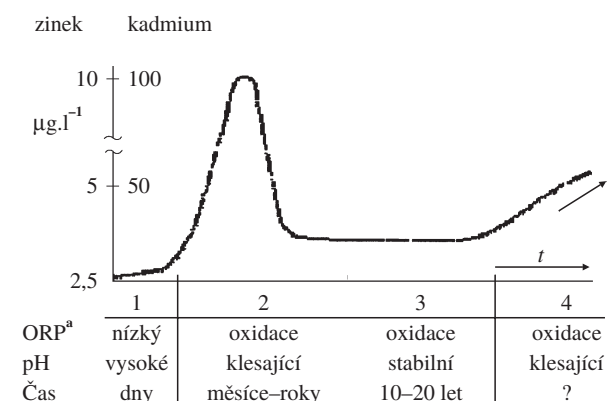
Neošetřovaný kontaminovaný sediment je tedy potenciálně nebezpečný materiál. Díky jeho značné citlivosti k jakýmkoli změnám, zejména k dříve popisovaným oxidačně redukčním, je nutné nakládat s ním šetrně, a vždy uvažovat o sanaci, očekáváme-li jeho provzdušnění, či po naplnění jeho retenční kapacity¹⁴.

4. Dekontaminace sedimentu

V zásadě existují dvě skupiny technik, kterými lze sanovat kontaminovaný sediment. První skupina spočívá v imobilizaci kontaminantů, odtud imobilizační techniky. Imobilizační techniky se mohou použít například v havarijních situacích, kdy je nezbytně nutné zastavit další pohyb znečištění. Jindy



Obr. 1. Změny hodnot pH modelového sedimentu po jeho provzdušnění¹⁴



^a ORP – oxidačně-redukční potenciál

Obr. 2. Změna mobility zinku a kadmia v hromadě kontaminovaného sedimentu z Labe po jeho provzdušnění²⁹

mohou zpomalovat vyplavování polutantů a umožnit tak bezpečné uložení fixovaného materiálu na skládce. Druhá skupina technik se zaměřuje na mobilizaci znečištění a jeho odstranění ze sedimentu. Tyto techniky lze souhrnně nazvat titulem techniky mobilizující a odstraňující znečištění.

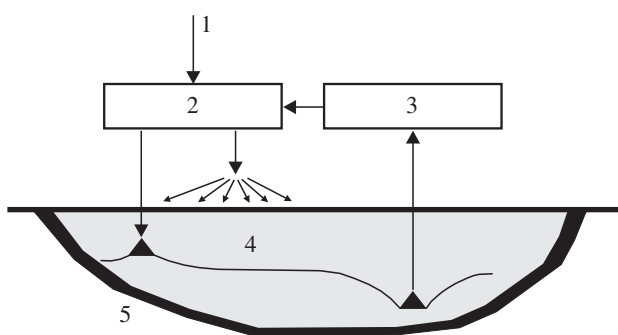
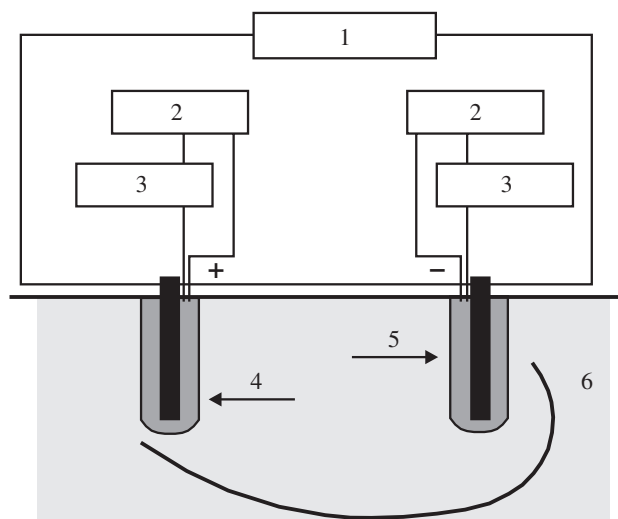
Obě zmíněné skupiny technik lze využít pro čištění sedimentu na svém původním místě výskytu: techniky *in situ*, nebo je možné sediment odtěžit, naložit a odvést jej k vlastnímu asanačnímu aparátu: techniky *ex situ*⁵⁴. O vlastní volbě pro *in situ* či *ex situ* techniku rozhodují ekologické, finanční a jiné podmínky. Lze však obecně říci, že techniky *in situ* jsou oproti technikám *ex situ*, spíše extenzivnějšího charakteru; probíhají déle, ovšem vyžadují nižší náklady.

4.1. Imobilizační techniky

Toxické kovy v sedimentu je možné imobilizovat trojí cestou: fyzikální, chemickou a biologickou. Tyto metody se mohou mezi sebou prolínat a být součástí sanačních technik jak *in situ*, tak i *ex situ*. Fyzikální imobilizace je založena na zapouzdření toxických kovů v mechanicky stabilní matici. Toto zapouzdření pak brání jejich vyluhování ze sedimentu do okolí. Chemické imobilizační metody spočívají ve změně mobility toxických kovů v sedimentu například díky jejich ad-

Tabulka I
Chemické imobilizační metody⁵⁴

Proces	Princip
Adsorpce, iontová výměna, komplexace	Divalentní kationty kovů jsou vázány na přidané speciální sloučeniny: bentonit, jíly, humusové látky, organický odpad ^{16,45}
Úprava pH reakce	Kationty kovů jsou při stoupajících hodnotách pH stále méně mobilní (přidává se vápenec, apatit, atd.). To však neplatí pro toxické kovy v aniontové formě (například As), které jsou naopak se stoupajícím pH pohyblivější ^{16,41}
Srážení	Vede ke vzniku nerozpustných solí kovů, například uhličitánů nebo sulfidů ¹⁶

Obr. 3. *In situ* extrakční proces; 1 – přidavek HCl, EDTA, NTA atd., 2 – úprava roztoku, 3 – odstraňování kovů, 4 – vodní hladina, 5 – izolaceObr. 4. Schéma elektroreklamační techniky⁴⁴; 1 – zdroj stejnosměrného elektr. proudu, 2 – čištění roztoku, 3 – úprava roztoku, 4 – anionty, 5 – kationty, 6 – hranice čištění

sorpci, iontovýměně, srážení nebo komplexaci. Existuje však i několik technik, které kombinují fyzikální a chemické imobilizační metody^{43,44}. Biologickou cestou jsou toxické kovy v sedimentu imobilizovány specifickými mikrobiálními procesy⁵⁵.

Fyzikální imobilizační metody využívají nejčastěji vitrificačních a solidifikačních procesů:

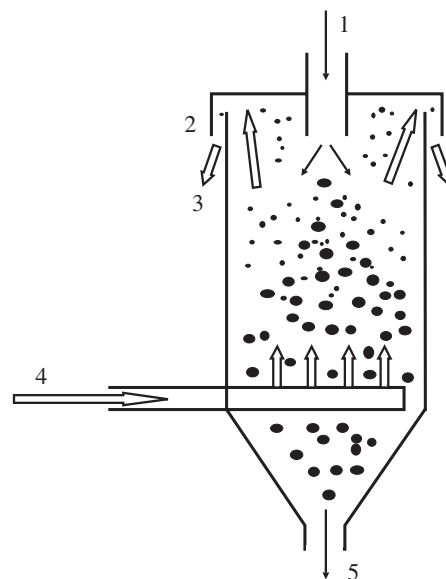
Vitrifikace (= zeskelnatění) spočívá v tavení sedimentu při teplotách okolo 1200 °C. Po přetavení je materiál zchlazen a toxické kovy jsou pak pevně imobilizovány v mechanicky stabilní matici – skle⁴².

Solidifikační procesy využívají speciálních solidifikačních materiálů, například směsi cementu a popílku. Po zatvrdnutí vytvoří cement mechanicky stabilní matici a navíc přidaný popílek působí jako chemický stabilizátor; udržuje hodnoty pH v zásadité oblasti⁴¹.

Chemické imobilizační metody využívají několik chemických procesů pro snížení mobility toxických kovů bez výrazných strukturálních změn sedimentu. Tabulka I nabízí nejvýznamnější chemické imobilizační metody.

Biologické imobilizační metody. Jednou z efektivních biologických imobilizačních metod je využití mikrobiálního procesu redukce sulfátů, který byl v praxi použit pro *in situ* imobilizaci zinku, rtuti a dalších toxických kovů v anaerobních sedimentech⁶⁵. Tento proces se značně zefektivňuje použitím sádrovce, který se rozptýluje na vodní hladinu nad sediment, přičemž ovlivňuje chemické procesy ve dvou směrech. Po disociaci CaSO_4 je sulfátový anion elektronovým akceptorem v procesu redukce sulfátů a Ca^{2+} pak upravuje hodnoty pH, čímž zpětně optimalizuje prostředí pro procesy redukce sulfátů a umožňuje také vyšší poutání kovů dalšími mechanismy – adsorpcí, srážením, komplexací atd.^{1,17,63}

Jednou z alternativ je využití mokřadů, tedy anaerobních systémů, k fixaci a akumulaci znečištění. Avšak po naplnění retenční kapacity systému je nutné zatížený mokřad dále sanovat jednou z dostupných sanačních technik, viz dále.

Obr. 5. Schéma hydrocyklony⁴⁴; 1 – kontaminovaný sediment, 2 – výpusť, 3 – extrakční látka + jemné částice, 4 – přívod extrakční látky, 5 – čistý sediment

4.2. Techniky mobilizující a odstraňující znečištění

Tabulky II a III shrnují dostupné sanační techniky *ex situ* a *in situ*, které mobilizují a odstraňují toxické kovy ze sedimentu. Významné či perspektivní techniky jsou popsány detailněji.

4.2.1. Extrakční čištění *in situ*

Kontaminovaný sediment, který může být například součástí mokřadu, je nezbytné na vlastní sanační proces připravit. Tato příprava zahrnuje jeho odvodnění a vyhloubení povrchových příkopů či horizontálních nebo vertikálních vrtů v sedi-

mentu. Vlastní extrakční proces *in situ* (obr. 3) pak spočívá v infiltraci kapalných extrakčních látek do sedimentu. Kapalina, která perkolovala sedimentem, je odsávána čerpadlem, následně vyčištěna a znovu použita k proplavování sedimentu⁴³. Celý proces se opakuje až do požadovaného vyčištění sedimentu⁴⁹.

V zásadě lze použít následující extrakční látky:

- anorganické kyseliny (HNO₃, HCl, H₂SO₄; pH < 2),
- organické kyseliny (máslná, octová; pH > 4),
- komplexotvorné látky (chloridy, kyselina citronová, NTA, EDTA),
- kombinace kyselin a komplexotvorných látek,
- oxidační činidla (H₂O₂) (cit.^{43,44,60,62}).

Tabulka II

Dostupné sanační techniky *ex situ* pro čištění sedimentů kontaminovaných toxickými kovy²⁷

Techniky	Princip	Použití
Vakuová destilace	Při vysokých teplotách se kovy odpařují ze sedimentu. Kov pak odchází v kontaminovaném plynu, který se dále čistí ¹⁸ .	pro těžké kovy (nejvíce Hg) a většinu organických polutantů
Klasifikace (fázová separace)	Sediment se nejčastěji separuje podle velikostních frakcí. Hrubé frakce, relativně čisté, se recyklují, jemné frakce jsou pak dále čištěny. Klasifikace může využívat gravimetrických metod, flotace, magnetických metod atd. ^{44,45,62}	pro všechny polutanty
Kyselá extrakce	Sediment se promíchá s minerálními (HNO ₃ , HCl, H ₂ SO ₄) nebo organickými (octová, mléčná) kyselinami. Po extrakci se separuje pevná a kapalná fáze. Kontaminovaná kapalina s extraktantem se pak dále čistí, extrakční látka se znovu používá v čistícím procesu ^{22,62} .	pro kationty kovů ve vodném prostředí
Mikrobiální louhování	Kultivace mikrobiálních společenstev jako thiobacilů, které využívají redukováné sírné a železnaté sloučeniny pro svůj zdroj energie, vede k acidifikaci sedimentu a vyplavování kovů ^{54,55} .	pro kovy v sulfidické formě s výjimkou Pb
Alkalická extrakce	Princip je shodný s kyselou extrakcí, ale jako extraktanty se používají zásady ²⁷ .	pro anionty kovů (hlavně As)
Čištění s cheláty	Princip je opět shodný s kyselou extrakcí, extrakční látky – cheláty nebo komplexotvorné látky jako EDTA, DTPA, NTA. Cena těchto látek je ovšem podstatně vyšší ^{60,62} .	pro všechny kovy

Tabulka III

Sanační techniky *in situ* pro čištění toxických kovů ze sedimentů^{9,31,49}

Techniky	Princip	Použití
Propírání sedimentu	Na povrch sedimentu je nalévána voda, která sedimentem perkoluje, a vyplavuje tak kovy. Tato kapalina se sbírá, odsává čerpadlem, čistí a znovu nalévá na povrch sedimentu ^{43,44} .	pro kovy, které jsou rozpustné ve vodě; metoda je velmi zdlouhavá
Kapalná extrakce	Stejný princip jako předcházející metoda, navíc se do vody přidávají extrakční látky – kyseliny, cheláty, surfaktanty, solventy, atd. ^{43,44}	pro všechny kovy a některé organické polutanty
Elektroreklamační metody	V sedimentu se vytváří elektrický potenciál, a mobilizují se tak elektricky nabitě částice nebo sloučeniny. Elektroosmotickými jevy navíc dochází i k mobilizaci nenabitých sloučenin ^{38,43,44} .	pro všechny kovy i některé organické polutanty
Separace <i>in situ</i>	Odstraňují se vysoce kontaminované horizontální či vertikální vrstvy sedimentu ⁹ .	pro všechny polutanty

Odstranění toxických kovů z extrakční kapaliny se provádí pomocí

- srážení (NaOH, Na₂S),
- ultrafiltrace, mikrofiltrace,
- reverzní osmózy,
- elektrolyzy,
- iontové výměny,
- biologického čištění³⁵.

Někdy je nezbytné tyto techniky kombinovat, například po srážení následuje koagulace a mechanické odvodnění sedimentu.

Další krok v sobě zahrnuje recyklaci extrakční kapaliny. Kapalina je chemicky upravena na své původní fyzikálně-chemické parametry (pH, koncentrace extrakční látky) a pak znovu využita v extrakci^{43,44}.

4.2.2. Elektroklaumační techniky

Elektroklaumační techniky lze využít jak pro čištění sedimentu *in situ*, tak i pro *ex situ*. Do sedimentu se zavádí série anod a katod (obr. 4), každá z těchto sérií může mít vlastní sběrný okruh kapaliny nebo společný centrální. Po zapojení stejnosměrného elektrického proudu se vytváří elektrické pole usměrňující tok částic. Kontaminanty se ve vodném prostředí sedimentu pohybují díky elektrolyze (ionty, iontové komplexy) a elektroforéze (koloidy, malé jílovité částice) vždy směrem k opačně nabitým elektrodám. Elektroosmotickými procesy se navíc mobilizují i elektroneutrální částice, jako organické polutanty. Doba potřebná pro vyčištění sedimentu se pohybuje od několika týdnů až po měsíce⁴³⁻⁴⁵.

4.2.3. Klasifikace

Klasifikace (= fázová separace částic) je jednou ze sanačních technik *ex situ*. Jejím smyslem je většinou oddělit od sebe jemné, značně znečištěné frakce od hrubých frakcí, relativně čistých⁴³⁻⁴⁵. Sediment je možné klasifikovat například technikou separace na fluidním lůžku (obr. 5), využívající rozdílné rychlosti sedimentace hrubých a jemných částic sedimentu ve vodném prostředí. Kapalina vstupuje do systému spodem a stoupá laminárním prouděním vzhůru. Kontaminovaný sediment se přidává horní částí, hrubé částice pak klesají dolů, jemné jsou vyplavovány přepadem v horní části tělesa. Vylepšení tohoto principu představují hydrocyklony, které využívají odstředivou sílu namísto prosté gravitace.

Za zmínku stojí i další systémy fázové separace, využívající rozdílných povrchových vlastností částic (flotace) či jejich magnetických vlastností (magnetická separace)⁴³.

Po klasifikaci se čistí pouze nejjemnější frakce, jejichž podíl je v sedimentu menšinový. To značně snižuje výslednou cenu za sanaci sedimentu⁴⁴.

4.2.4. Techniky mikrobiálního louhování

Techniky mikrobiálního louhování, které se používají jako sanační techniky *ex situ*, jsou spíše okrajové, potřebují oproti většině standardních technik, delší čistící čas, ovšem příznivá může jejich být cena. Kontaminovaný sediment se odtěží, naloží, odváží a ukládá na speciální izolovanou podložku (obr. 6). Ve vzniklých hromadách či vrstvách se pak navodí vhodné podmínky pro aktivitu thioacidofilů, například udržováním vlhkosti, dodávkou vzduchu či substrátu pro mikroby – elemen-

tární síry či odpadních železnatých sloučenin. To vše vede k významné acidifikaci sedimentu a následné mobilizaci toxických kovů^{54,55,57,58}. Na povrch sedimentu se pak rozprašuje kapalina, která se po perkolaci sedimentem sbírá, čistí a znovu dopravuje na povrch sedimentu (= technika promývání na hromadách). Celý proces se opakuje až do úplného vyčištění sedimentu⁴³.

4.2.5. Fytoremediační technika

Fytoremediace, tedy odstranění polutantů z kontaminovaného materialu pomocí speciálních rostlin, které jsou schopny přijímat znečištění ve větších množstvích, je alternativní způsob pro extenzivní sanaci *in situ*. Využití tohoto postupu je velice diskutabilní, a to zejména vzhledem k úspěšnosti sanačního procesu a jeho délce (desítky let až století). Kontaminované rostliny je pak dále nutné sanovat vhodnou technikou *ex situ*, a tím se podstatně prodražuje i tento postup.

4.3. Ceny vybraných sanačních technik

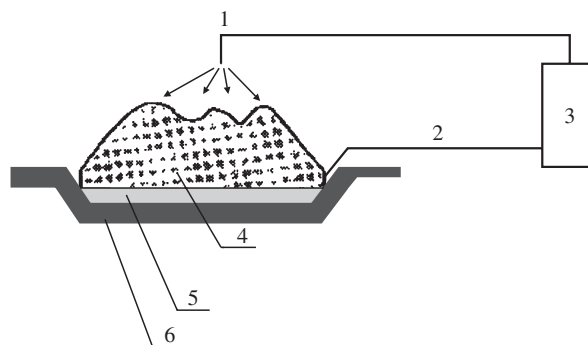
V následující tabulce IV předkládáme ceny vybraných sanačních technik *in situ* a *ex situ* v zemích EU. Výsledná cena za sanaci půdy či sedimentu je tedy součtem dílčích cen za operace spojené s nakládáním s takovýmto materiálem a ceny za vlastní sanaci.

Pejzl a Růžička³⁶ prezentovali současné ceny v České republice spojené se sanací kontaminované půdy. V tabulce V předkládáme tyto ceny (totožné i pro čištění sedimentu) pro porovnání s dříve uváděnými cenami v zemích EU.

Z předchozích cenových porovnání technik *in situ* a *ex situ* je zřejmé, že výsledná cena sanačních technik *ex situ* může několikrát přesahovat cenu srovnatelné techniky *in situ*. Je to právě díky většímu počtu a náročnosti nutných operací po ukončení vlastního čistícího procesu. Snad právě kvůli vysokým cenám se v poslední době ve stále větší míře přechází právě k sanačním technikám *in situ*.

5. Závěr

Sedimenty mohou být chemickou časovanou bombou, a to i v relativně málo znečištěných oblastech. V anaerobních sedimentech se díky popisovaným chemickým a mikrobiálním



Obr. 6. Technika promývání na hromadách⁴⁴; 1 – rozprašování, 2 – odsávání, 3 – regenerace kapaliny, 4 – kontaminovaný sediment, 5 – drenážní systém, 6 – hydrogeologická izolace

procesům hromadí polutanty, jejich koncentrace se neustále zvyšuje, a sediment se tak stává chemickou časovanou bombou. Spouští, která tuto bombu může odstartovat, je například změna anaerobních podmínek na aerobní nebo překročení retenční kapacity sedimentu. Těmto nepříznivým efektům je třeba předjet a kontaminovaný sediment včas sanovat.

Tabulka IV

Ceny vybraných technik pro sanaci kontaminované půdy a sedimentu^{2,7,43}

Technika	Cena [USD.m ⁻³]	Sanační firma	Lit.
<i>In situ</i>			
Promývání	48–80	– ^a	7
	100–300	Scient. Ecol. Group	2
	150–250	Westinghouse Rem.	2
Provětrávání	5–50	– ^a	7
Extrakce <i>in situ</i>	100	– ^a	43
Extrakce parou <i>in situ</i>	< 100	– ^a	44
Bioremediace	48–80	– ^a	7
Biodegradace <i>in situ</i>	30–40	– ^a	43
Elektroreklamační metoda <i>in situ</i>	10–50	– ^a	44
<i>Ex situ</i>			
Vyzvednutí sedimentu a následná manipulace	15–30	– ^a	7
Zaplnění odtěžené lokality čistou půdou	15	– ^a	7
Skladování na zabezpečené skládce	100–500	– ^a	7
Spálení, pyrolýza	100–500	– ^a	7
Promývání	150–200	– ^a	7
	100–300	Scient. Ecol. Group	2
	150–250	Westinghouse Rem.	2
Bioremediace	150–500	– ^a	2
Bioremediace v suspenzním reaktoru	75–250	OHM Corporation	7
Průmyslové kompostování	30–600	Remediation Techn.	2
	35–75	Techn.	2
	40–75	IT Corporation	2
Extrakce a klasifikace <i>ex situ</i>	50–150	SBP Technologies	2
	160–900	– ^a	43
	100–400	Terra-Kleen Corp.	2
	75–400	Res. Conservation CF System Corp.	2
Extrakce solventy <i>ex situ</i>	75–400	CF System Corp.	2
Termální čištění <i>ex situ</i>	100–150	– ^a	43
	25–75	Soil Purification	2
	120–400	SoilTech ATP	2
	200–1000	Texarome, Inc.	2
Solidifikace	100–150	– ^a	43
Vitrifikace	> 250	– ^a	43
	600–1000	ReTech, Inc.	2

^a Jméno firmy není k dispozici

Tabulka V

Ceny za sanaci kontaminované půdy a sedimentu v ČR³⁶

Proces	Jednotka	Kč/jednotka
Odtěžení a naložení materiálu	m ³	50–100
Doprava materiálu	t.km	1,5–4,5
Navezení inertního materiálu	m ³	50–150
Podzemní těsnící stěna	m ³	3500–4000
Zemina či sediment znečištěný ropnými látkami		
Biodegradace <i>in situ</i>	m ²	100–300
Biodegradace <i>ex situ</i>	t	600–1000
Solidifikace	t	1500–4000
Termická úprava	t	4000–12000
Skládkování	t	900–2000
Zemina nebo sediment znečištěný kombinovanými polutanty (například ropnými látkami a toxickými kovy)		
Vodní pračka	t	3000–5000
Solidifikace	t	2000–6000
Skládkování	t	1200–3000

Využití mokřadů pro čištění některých vod obsahujících toxické kovy (důlní drenáž, průmyslové, komunální) se může v budoucnosti, vzhledem k nutnosti asanace, značně prodražit. Vstupní náklady na zbudování mokřadu, jakož i jeho provozování, nejsou příliš vysoké. Regenerace mokřadu spojená se sanací sedimentu s sebou ovšem ponese právě největší finanční výdaje. Pokud pak sečteme veškeré náklady, může se tato technika ve skutečnosti jevit daleko méně lukrativní. V posledních letech se i ČR připojila ke světovému trendu čištění kontaminovaných vod v mokřadech; v současné době je jich v provozu na desítky. Protože jsme tyto mokřady zakládali v posledních letech, lze očekávat, že již během několika let se naplní jejich retenční kapacita (podle druhu a koncentrace polutantů), a i my se budeme muset vážně zabývat jejich sanací.

Otázky sanace sedimentů jsou aktuální na celém světě, můžeme očekávat, že i v České republice jim také v budoucnu bude věnována podstatně vyšší pozornost. Kontaminované sedimenty se nevyskytují jen v blízkosti silných zdrojů znečištění, ale mohou také představovat vážný problém v plošně znečištěných oblastech, výsypkách po těžbě uhlí či jiných nerostů, při revitalizaci toků a čištění říčních koryt a nádrží.

LITERATURA

1. Alloway B. J.: *Heavy Metals in Soils*. Blackie Academic Professional, London 1995.
2. Anonym: VISITT – Vendor Information System for Innovative Technologies. EPA/542-R-93-001. US EPA, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, D.C. 1993.
3. Bourg A. C. M., Darmendrail D.: *Environ. Technol.* 13, 695 (1992).
4. Bruynesteyn A.: *J. Biotechnol.* 11, 1 (1989).
5. Buisman C. J. N., Geraats B. G., Ijssert P., Lettinga G.: *Biotechnol. Bioengineer.* 35, 50 (1990).
6. Bunzl K., Wolf A., Sansoni B.: *J. Soil Sci.* 27, 32 (1976).

7. Carrera P., Robertiello A., v knize: *Integrated Soil and Sediment Research: A Basis for Proper Protection* (Eijssackers H. J. P., Hamers T., ed.), str. 733. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht 1993.
8. Cibulka J., Domažlická E., Kozák J., Kubizňáková J., Mader P., Machálek E., Maňková B., Musil J., Pařízek J., Píša J., Pohunková H., Reisnerová H., Svobodová Z.: *Pohyb olova, kadmia a rtuti v biosféře*. Praha, Academia 1991.
9. Cuperus J. G., Urlings L. G. C. M., van Vree H. B. R. J.: *Perspectieven voor in situ Saneringen*. TAUW InfraConsult B.V., Deventer 1992.
10. Darby D. A., Adams D. D., Nivens, W. T., v knize: *Sediment and Water Interactions* (Sly P. G., ed.), str. 343. Springer-Verlag, Berlin 1986.
11. Davis A. P., Hao O. J., Chen J. M.: *Chemosphere* 28, 6 (1994).
12. Dvorak D. H., Hedin R. S., Edenborn H. M., McIntire P. E.: *Biotechnol. Bioengineer.* 40, 609 (1992).
13. Evangelou V. P., Zhang Y. L.: *Environ. Sci. Technol.* 25, 2 (1995).
14. Fajtl J., Tichý R., Ledvina R.: *Sborník referátů z mezinárodní vědecké konference AGROREGION'97, Problematika současného zemědělství a případové studie*. Jihočeská univerzita, České Budějovice 1997.
15. Förstner U., v knize: *Biogeochemistry of Pollutants in Soil and Sediments* (Salomons W., Stigliani W. M., ed.), str. 247. Springer-Verlag, Berlin 1995.
16. van der Heijden L. M., Kerckdijk H. N., Kroot M. P. J. M., Sonneveldt H. L. A., Zwolsman J. J. G., de Rooij N. M., Smits J. G. C., v knize: *Remediation and Isolation Techniques for Soils and Sediments* (Grotenhuis J. T. C., Lexmond M. J., Rogaar H., van der Heuvel-Pieper A. H., ed.), sv. 5, str. 249. Wageningen Agricultural Faculty, Wageningen 1996.
17. Hedin R. S., Walzlaf G. R., Nairn R. W.: *J. Environ. Quality* 23, 1338 (1994).
18. Henning R.: *Proceedings Int. Conf. Contaminated Soils 93* (Arendt F., Annokée-Bosman R., van der Brink W. J., ed.) Berlin, May 1993, str. 1305. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht 1993.
19. Ivanov M. V., v knize: *The Global Biogeochemical Sulphur Cycle* (Ivanov M. V., Freney J. R. (ed.), str. 449. Wiley, Chichester 1983.
20. Jaffé R.: *Environ. Pollut.* 69, 237 (1991).
21. Johnson W. P., Amy G. L.: *Environ. Sci. Technol.* 29, 807 (1995).
22. Joziassse J., van Dijk F.: cit. 16, str. 9.
23. Karavaiko G. I.: *Microbiological Processes for the Leaching of Metals from Ores*, sv. 69. Centre of International Projects GKNT, Moscow 1985.
24. Karikhoff S. W., Brown D. S., Scott T. A.: *Water Res.* 13, 241 (1979).
25. Kersten M.: *Dissertation*. Technische Universität Harburg-Hamburg, Hamburg 1989.
26. Kowalska M., Guler H., Cocke D. L.: *Sci. Total Environ.* 141, 223 (1994).
27. van de Leur G. J.: RIVM report no. 736102003. RIVM, Bilthoven 1990.
28. Lhotský R., Koranda K.: *Odpady 1997*(2), 11.
29. Maass B., Miehlich G.: *Mitt. Dtsch. Bodenkunde Ges.* 56, 289 (1988).
30. Merrington G., Alloway B. J.: *Water Air Soil Pollut.* 73, 1 (1994).
31. Morgan P., Watkinson R. J.: *FEMS Microbiol. Rev.* 63, 277 (1989).
32. Müller G., Furrer R.: *Proceedings. Int. Conf. Heavy Metals in the Environment*, sv. 2, str. 83. CEP Consult., Edinburgh 1995.
33. Müller G., Furrer R.: *Water Quality Int. (January/February) 1998*, 15.
34. Pardue J. H., Masscheleyn P. H., Delaune R. D., Patric W. H.: *Environ. Sci. Technol.* 27, 875 (1993).
35. Patterson, J. W.: *Industrial Wastewater Treatment Technology*. Butterworths Publishers, Boston 1985.
36. Pejzl M., Růžička J.: *Odpady 1997*(2), 20.
37. du Preez L. A., Odendaal J. P., Maree J. P., Ponsonby M.: *Environ. Technol.* 13, 875 (1992).
38. Probststein R. F., Hicks R. E.: *Soil Sci.* 260, 498 (1993).
39. Pronk J.: *Dissertation*. Technical University Delft, Delft 1990.
40. Revis N. W., Elmore J., Edenborn H., Osborne T., Holdsworth G., Hadden C., King A., v knize: *Biological Processes, Innovative Hazardous Waste Treatment Technology Series* (Freeman H. M., Sferra P. R., ed.), díl 3, str. 97. US EPA, Lancaster 1991.
41. Roy A., Eaton H. C., Cartledge F. K., Tittlebaum M. K.: *Hazard. Waste, Hazard. Mater.* 8, 1 (1991).
42. Royer M. D., Selvakumar A., Gaire R.: *J. Air Waste Manage. Ass.* 42, 7 (1992).
43. Rulkens W. H.: *Med. Fac. Landbouw (Univ. Gent.)* 57, 4a (1992).
44. Rulkens W. H., Grotenhuis J. T. C., Tichý R., v: *Proceedings. Int. SETAC Conf. Heavy Metals, Problems and Solutions* (Salomons W. H., Förstner U., Madder P., ed.) *Liblice, October 1992*, str. 150.
45. Rulkens W. H., Grotenhuis J. T. C., Soczó E. R.: cit. 18, str. 1007
46. Salomons W., Stigliani W. M. (ed.): *Biogeochemistry of Pollutants in Soils and Sediments. Risk Assessment of Delayed and Non-linear Responses*, str. 30. Springer-Verlag, Berlin 1995.
47. Schnitzer M., Hanson E. H.: *Soil Sci.* 109, 333 (1970).
48. Shimizu Y., Yamazaki S., Terashima Y.: *Water Sci. Technol.* 25, 41 (1992).
49. Staps J. J. M.: *International Evaluation of in-situ Bioremediation of Contaminated Soil and Groundwater* (RIVM report no. 738708006). RIVM, Bilthoven 1990.
50. van der Steen J. J. D., Doddema H. J., de Jong G.: *Uitloging van zware metalen uit afval-stromen met behulp van thiobacilli (Rapport 10)*, str. 10. Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer, The Netherlands 1992.
51. Stevenson F. J.: *Soil Sci. Soc. Am. J.* 40, 665 (1976).
52. Stevenson F. J.: *Humus Chemistry*, str. 443. Wiley, New York 1982.
53. Stigliani W. M., Anderberg S.: *Industrial Metabolism and the Rhine Basin. Options* (September) 1991.
54. Tichý R.: *In-situ Remediation of Soils Contaminated with Heavy Metals. A Feasibility Study Directed to Extensive Techniques* (Final report of UEK) Czech Republic, June 1993.
55. Tichý R., Janssen A., Grotenhuis J. T. C., Lettinga G., Rulkens W. H.: *Biores. Technol.* 48, 221 (1994).

56. Tichý R., Mejstřík V.: *Environ. Rev.* 4, 4 (1996).
57. Tichý R., Rulkens W. H., Grotenhuis J. T. C., Nýdl V., Cuypers C., Fajtl J.: *Proceedings Int. Symp. Land Restoration, IAWQ, July 1997*, str. 124.
58. Tichý R., Lens P., Grotenhuis J. T. C., Bos P.: *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 28, 1 (1998).
59. Truper H. G., v knize: *Studies in Inorganic Chemistry* (Muller A., Krebs B., ed.), str. 351. Elsevier, Amsterdam 1984.
60. Tuin B. J. W., Tels M.: *Environ. Technol.* 12, 178 (1991).
61. Turekian K. K., Wedepohl K. H.: *Bull. Geol. Soc. Am.* 72, 175 (1961).
62. U.S. EPA: *Innovative Treatment Technologies: Semi-annual Status Report*, EPA/540/2-91/001 (3rd ed.) U.S. EPA, Washington D. C. 1991.
63. Veselý J.: *Vestn. Cesk. Geol. Ustavu* 70, 3 (1995).
64. Ward E. J., Winfrey M. R.: *Adv. Aquat. Microbiol.* 3, 141 (1985).
65. Wasay S. A.: *J. Environ. Sci. Health, Part A* 28, 2 (1993).

J. Fajtl^a, R. Tichý^b, and R. Ledvina^a (^a*Agricultural Faculty, ^bBiological Faculty, South-Bohemian University, České Budějovice*): **Contaminated Freshwater Sediments as Chemical Delayed-Action Bombs**

The pollution of environment with various micropollutants, in particular toxic metals, often leads to their accumulation in different components of ecosystems, for example in freshwater sediments. The freshwater sediments interact with agricultural production of future, whether by floods or by disposing of dredged sediments on agricultural soil. Answers to the following questions are sought in the review: 1. How do anaerobic freshwater sediments accumulate different pollutants? 2. What happens to the anaerobic sediments if they become aerobic, for example due to floods, which lower the water level? 3. Which soil remediation techniques can be used for treatment of contaminated sediments? The review of feasible principles includes also description of their technological applications and a comparison of costs. Special attention is paid to the implications of these phenomena on wetland systems for water treatment, which are increasingly used at remote places and small agricultural enterprises. However, the impacts of contamination of the wetlands on their overall economy is not yet known.

Technický slovník naučný

Právě vychází první svazek *Technického slovníku naučného A–Č*.

Knihy má 416 stran formátu A5, tvrdou laminovanou vazbu, obsahuje cca 500 černobílých ilustrací a barevnou přílohu. Cena 390 Kč. ISBN 80-86044-17-3.

Vydavatel Encyklopedický dům, s.r.o., bližší informace na www.encyklopedie.cz.

Projekt

Celkový rozsah díla	cca 350 AA
Počet svazků	7–8
Počet stran ve svazku	cca 500
Počet čb ilustrací	cca 3 000
Barevná příloha	8–16 stran v každém svazku
Formát	A5; 2 sloupcová sazba
Počet hesel	cca 42 000
Průměrná délka hesla	6 řádků po 50 typech

Časový harmonogram

Zahájení prací	září 1998
Autorské práce	průběžně, ukončení prosinec 2002
Redakční práce	průběžně, prosinec 2003
Vydání 1. svazku	2001
Vydání 8. svazku	prosinec 2004



TRANSGENNÍ ROSTLINY – POTENCIÁLNÍ NÁSTROJ PRO DEKONTAMINACI POLUTANTŮ ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

KATEŘINA FRANČOVÁ^a, TOMÁŠ MACEK^b,
KATEŘINA DEMNEROVÁ^a
a MARTINA MACKOVÁ^a

^aÚstav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 3, 166 28 Praha 6, ^bÚstav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6

Došlo dne 1. VIII.2001

Klíčová slova: transgenní rostliny, fytoremediace, *Agrobacterium*, těžké kovy, PCB

Obsah

1. Co jsou transgenní rostliny a jakým způsobem je lze připravit
 - 1.1. Metody přípravy transgenních rostlin
 - 1.1.1. Transformace rostlinných buněk pomocí bakterií rodu *Agrobacterium*
 - 1.1.2. Další metody využívané v rostlinné genetice
 2. Směry využití transgenních rostlin
 - 2.1. Zemědělství a potravinářství
 - 2.2. Produkce farmaceuticky významných látek
 - 2.3. Příprava transgenních rostlin pro účely fytoremediace
 - 2.3.1. Fytoremediace prostředí znečištěného rtuť
 - 2.3.2. Zvýšená akumulace těžkých kovů
 - 2.3.3. Biodegradace výbušnin
 - 2.3.4. Využití cytochromu P450 pro bioremediace
 3. Výhody a nevýhody použití GMO
 4. Závěr

1. Co jsou transgenní rostliny a jakým způsobem je lze připravit

Transgenní rostliny využívané v praxi jsou v dnešní době především zemědělské plodiny se zvýšenou rezistencí k hmyzím škůdcům, virovým infekcím, nebo herbicidům¹. Dále jsou to takové rostliny, které jsou zdrojem potravin s vyšší nutriční hodnotou (složení a obsah nenasycených mastných kyselin, vitaminů), rostliny odolnější vůči extrémním povětrnostním podmínkám, nebo s upravenou schopností dozrávání. Kromě těchto výhod, uplatňovaných hlavně v zemědělské produkci (pšenice, kukuřice, sója, řepka olejná, bavlna atd.), byly připraveny také geneticky modifikované (GM) rostliny, které jsou schopné produkovat farmaceuticky významné látky (protilátky), enzymy atd.². Na začátku 90. let se technologie transgenních rostlin posunula k novému odvětví. Je to využití rost-

lin jako heterologních expresních systémů, mj. pro antigeny savčích patogenů. Od té doby byly různé lékařsky významné antigeny exprimovány v transgenních rostlinách, jako např. povrchový antigen hepatitidy B (cit.²), králičí virový glykoprotein³.

Jak je patrné z předchozího odstavce, jsou genové manipulace v rostlinné biotechnologii stále více využívány. Různé transgeny mají vliv na kvalitu úrody, geny regulují dozrávání, složení tuků a kvalitu proteinů v semenech. Výzkum tkáňové specifických promotorů dovoluje genovému inženýrství vytvořit nové kategorie transgenních rostlin tvořících žádané produkty⁴.

Neméně důležité a v literatuře stále častěji diskutované je využití transgenních rostlin k odstraňování kontaminantů ze životního prostředí a využití transgenních rostlin se zvýšenou schopností akumulace nebo přeměny látek znečišťujících životní prostředí⁵.

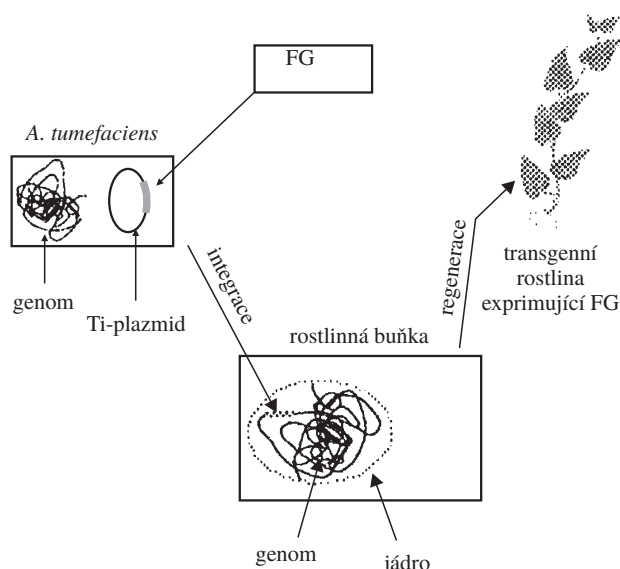
V nedávné době vyvolalo stále se rozšiřující využití transgenních rostlin velké diskuse. Jde hlavně o zemědělské plodiny, kultivované ve velkém měřítku jako suroviny pro lidskou výživu. Tyto obavy způsobily i větší pozornost politiků a např. v naší republice iniciovaly přípravu a schválení zákona O nakládání s geneticky modifikovanými organismy a produkty, který platí od 1.1.2001.

Většina argumentů proti použití GMO, především některých aktivistů hnutí Greenpeace, Děti Země atd., je nepodložená a lze je i vědecky vyvrátit. Avšak na druhé straně je bezesporu nutná obezřetnost při manipulaci, kultivaci a využívání geneticky modifikovaných organismů a je nezbytné dokonalé ověřování rizika spojeného s uváděním těchto surovin do životního prostředí či přímo na trh. Výroba potravin je předmětem novely zákona o potravinách schválené v roce 2000 a novelizované vyhlášky 24/2001 čl. 7 Sb., která platí od 1.6.2001 s výjimkou paragrafu týkajícího se povinnosti značit geneticky modifikované potraviny s obsahem transgenní DNA 1 % a více (bude platit od 1.1.2002). Kontrolu zajišťují stále se rozvíjející a zdokonalující detekční metody pro přítomnost transgenů.

1.1. Metody přípravy transgenních rostlin

Revoluci v rostlinné biotechnologii způsobily především dva významné objevy. Nejprve to bylo objevení unikátní schopnosti jednotlivých rostlinných buněk regenerovat a vytvořit celou rostlinu. Neméně důležitý byl objev zatím nejvhodnějšího vektoru pro přenos genů, což je Ti plazmid, který se vyskytuje v půdních bakteriích *Agrobacterium tumefaciens*, resp. Ri plazmid v *A. rhizogenes*.

Využití agrobakteriálního přenosu je jednou z hlavních technik využívaných v současnosti pro vnesení požadovaných genů do rostlinného genomu⁶. Tato technika je poměrně široce rozšířená, má však několik limitujících faktorů, které omezují v některých případech její použití. Agrobakteriálních plazmidů jako vektoru se používá především pro dvouděložné rostliny, ale jsou již známé i případy jejich aplikace na jednoděložné rostliny (chřest, kukuřice, rýže, pšenice)⁷. Další tech-



Obr. 1. Schéma přenosu cizorodého genu (FG) pomocí *A. tumefaciens* do rostlinné buňky

nikou využívající „přirozený“ přenos je využití virálních vektorů, které však vede k přechodné, nikoli stabilní transformaci.

V případech, kdy nelze použít výše zmíněné techniky, nastupují další metody přenosu. Některé se rozvinuly až po objevu technik, které umožňují regeneraci celých rostlin z kalusu nebo z jediného protoplastu. Jsou to techniky, které využívají přímý přenos DNA⁸, elektroporaci, vakuovou infiltraci DNA, různé chemické úpravy, mikroinjekci, nebo balistické metody⁹.

1.1.1. Transformace rostlinných buněk pomocí bakterií rodu *Agrobacterium*

Tato metoda přenosu genetické informace do rostlinných buněk je založena na přirozené vlastnosti bakterií *Agrobacterium tumefaciens* a *A. rhizogenes* napadat vyšší rostliny, vnášet do nich své specifické geny, lokalizované do části velkého plazmidu, označovaného Ti (tumour inducing) nebo Ri (root inducing)⁷, a indukovat morfologické změny těchto napadených rostlin. Přenášená část Ti a Ri plazmidů se nazývá T-DNA (transferred DNA). Plazmid Ti má obvykle délku v rozmezí 150 000–200 000 párů bází, což je asi 3 % délky chromosomu *A. tumefaciens*. Ti plazmid obsahuje dva hlavní úseky:

- T-DNA, která do rostlinných buněk vstupuje, ale sama nemá žádné geny pro vlastní integraci,
- úsek virulence, který obsahuje geny nutné pro funkce podmiňující přenos T-DNA do rostlinných buněk a jejich integraci do rostlinného genomu.

Pro funkci plazmidu v bakteriálních buňkách a pro interakci mezi bakteriemi a rostlinnými buňkami jsou nutné i další úseky genomu, částečně lokalizované též v bakteriálním chromosomu.

T-DNA obohacuje rostlinný genom o dvě základní skupiny genů⁷:

- Geny pro biosyntézu rostlinných hormonů, auxinů a cy-

tokininů. Ty způsobují dediferenciaci rostlinných buněk a jejich růst jako nediferencované nádory, případně kořinky typu „hairy root“.

- Geny pro syntézu nádorově specifických látek, tzv. opinů. Opiny slouží jako zdroj uhlíku, dusíku a energie pro typ bakterie, který transformaci indukoval. Přenos T-DNA z plazmidu Ti do jednoho z chromosomů rostlinného buňčného jádra je zachycen na obr. 1.

K současným genetickým manipulacím se ovšem nevyužívá přírodní divoký kmen agrobakteria, nýbrž kmeny s modifikovanými Ti plazmidy. Byly odstraněny geny pro rostlinné hormony, jež byly příčinou vzniku tumoru, a geny pro tvorbu opinů, které jsou v těchto případech zbytečné. Současně byly do původní T-DNA vneseny geny, sloužící jako selekční markery. Mezi nejvíce využívané markerové geny patří bakteriální β -glukuronidasový (GUS), luciferasový a v poslední době též gen kódující „green fluorescent protein“ (GFP). Vzhledem k tomu, že přírodní Ti plazmid je příliš veliký, což způsobovalo problémy při práci, byla T-DNA s hraničními sekvencemi vnesena do menších plazmidů odvozených od *pBR 322*, nyní již běžně komerčně dostupných. V oblasti T-DNA těchto nově připravených plazmidů existují unikátní restrikční místa, do kterých můžeme vložit připravený konstrukt určený k přenosu do rostlinného genomu.

Genetický konstrukt, který chceme vnést, musí obsahovat promotor (např. nejčastěji používaný konstitutivní promotor z viru kvěťákové mozaiky CaMV 35S, promotor řídicí expresi ubiquinonu u kukuřice, či jiné orgánově a pletivově specifické promotory fungující v rostlině), sekvenci kódující požadovaný gen a terminační signál. V současné době se výzkum soustřeďuje na nalezení dalších promotorů indukovaných např. vlivy životního prostředí (těžké kovy apod.).

1.1.2. Další metody využívané v rostlinné genetice

Protoplasty jsou vhodné pro genové manipulace, neboť u nich může za specifických podmínek dojít k fúzi buněk blízkých, ale i zcela odlišných rostlinných druhů za vzniku somatických hybridů. Protoplasty můžeme získat z rostlinných pletiv nebo z kalusových a suspenzních kultur¹⁰. Po fúzi a přenesení protoplastů na živné médium, které musí obsahovat cytokininy a auxiny ve vhodném poměru pro tvorbu a vývoj kalusového pletiva, k němuž dochází zhruba po pěti až deseti dnech po tvorbě nové buněčné stěny a začátku buněčného dělení, dochází k diferenciaci buněk a vzniku embrya. Toto embryo se může vyvinout v plně funkční rostlinu se změněným genetickým vybavením.

Další vhodné metody jsou tzv. balistické metody, které umožňují přenášet geny do buněk i do celých neporušených rostlin. Tyto metody jsou založeny na využití urychlených částic těžkých kovů (zlatých nebo wolframových) pokrytých genetickým materiálem⁹. Jsou to poměrně nové metody a nacházejí uplatnění především u těch rostlinných druhů, u nichž selhaly metody využívající agrobakteria. S úspěchem lze tyto metody využít i pro další aplikace, včetně přímé transformace genomu organel či rychlého vpravení genetické informace do buněk bez porušení tkání a pletiv, např. do růstového meristému.

Další známou metodou přenosu DNA je mikroinjekce, při níž je DNA vpravována do buněk pod mikroskopickou kontrolou¹¹. DNA může být umístěna do konkrétních subcelulár-

ních částí jednotlivých protoplastů, do izolovaných buněk nebo také do jednotlivých buněk ve vícebuněčných strukturních. Tato metoda je neúčinnější (účinnost až v desítkách procent) a je použitelná i s rostlinnými pletivy⁷. Během jednoho pokusu lze však ovlivnit jen malé množství buněk.

Většina pracovišť dává z výše uvedených postupů přednost agrobakteriální transformaci (vysoká efektivita, nízký počet kopií, intaktní transgeny) a balistickým metodám (možnost transformace bez ohledu na rostlinný druh).

2. Směry využití transgenních rostlin

2.1. Zemědělství a potravinářství

Jak bylo již výše uvedeno, zatím nejširší využití i přes rozporuplné názory laické veřejnosti našly transgenní rostliny v zemědělství a následně i v potravinářství.

Jako největší problém, jenž by mohl být širším využitím transgenních rostlin vyřešen, se jeví stále se zvyšující potřeba množství potravin. Nedávný průzkum časopisu *The Economist* (březen 2000) ukazuje, že světová populace vzrostla za posledních 40 let o 90 %, zatímco produkce potravin vzrostla jen o 25 %. Dalším problémem jsou každoroční ztráty po napadení hmyzem nebo jinými škůdci (ztráty až 40 % úrody), přičemž množství používaných chemikálií, ať už pesticidů, insekticidů nebo herbicidů, není z ekologického hlediska možné neustále zvyšovat.

Hlavním cílem genetické modifikace je zasáhnout do rostlinného genomu tak, aby došlo k vytvoření organismů rezistentních k herbicidům, odolných vůči škůdcům, bakteriálním, plísňovým a virovým infekcím, extrémním podmínkám, nebo ke zvýšení nutriční hodnoty potravin.

V praxi zatím nejvýznamnější aplikaci představuje vnášení odolnosti vůči herbicidům a hmyzím škůdcům. V USA byly uvedeny na trh sója (*Roundup Ready*), bavlník a řepka olejná rezistentní k herbicidu glyfosatu a od roku 1996 jejich podíl na celkové výměře výrazně vzrostl. Velkou část rostlinných geneticky modifikovaných organismů (GMO) tvoří odrůdy odolné vůči hmyzu. Tyto rostliny obsahují ve svém genomu geny pro toxiny pocházející z bakterie *Bacillus thuringiensis*. Dříve byly extrakty této bakterie používány ve formě postřiků, což mnohdy nemělo předpokládaný efekt. Získané zkušenosti vedly ke konstrukci GMO obsahujících geny kódující vznik toxinu, tzv. bt toxinu, schopných odolávat napadení hmyzími škůdci (např. kukuřice, tabák).

V současnosti jsou schválené, kultivované a distribuované na trh některé GM rostliny, viz tab. I.

Zajímavým příkladem GMO jsou transgenní rajčata. Genom rajčat byl upraven tak, že dochází k opožděnému zrání a delší trvanlivosti.

Existují dva typy těchto transgenních rajčat. První typ jsou tzv. rajčata „flavr savi“^{7,12}. Ta obsahují transgen, který inhibuje nebo alespoň tlumí (ko-supresorem) funkci genu pro tvorbu enzymu polygalakturonasy (PG), který katalyzuje hydrolyzu α -1,4 vazby polygalakturonové kyseliny, vyskytující se jako složka buněčných stěn v oplodí rajčat¹³. PG je syntetizována během zrání a svým rozkladem pektinu ve střední lamelle buněčné stěny plodu způsobuje měknutí rajčat. U plodů transgenních rostlin se silně redukovanou aktivitou PG (pod 10 %) došlo k několika změnám vlastností. Plody byly podstatně

větší, méně napadány bakteriálními a houbovými chorobami, šťáva měla hustší konzistenci, větší viskozitu a více sušiny. Jinak se ale, proti původnímu předpokladu, příliš nezměnila jejich tendence k měknutí.

Druhým typem jsou rajčata, do jejichž genomu byl vnesen transgen, který zamezuje expresi rostlinného genu pro syntézu ethylenu, plyného rostlinného hormonu, jenž spouští kromě jiného kaskádu procesů vedoucí ke zrání plodů.

Modifikovaná kukuřice, rezistentní k herbicidu fosfinothricinu a hmyzu, obsahuje oproti klasickým odrůdám navíc tři geny. Transformací přímou metodou s využitím protoplastů byly vneseny do rostlinného chromosomu:

- geny pro rezistenci k herbicidu fosfinothricinu (obchodní názvy: Basta, Liberty, Finale, Radicale). Je to nový typ herbicidu, který způsobuje blokaci enzymu glutaminsynthetasy, klíčového enzymu metabolismu dusíku,
- gen pro δ -endotoxin z *Bacillus thuringiensis*, čímž je zajištěna odolnost proti hmyzím škůdcům,
- gen pro β -laktamasu, podmiňující rezistenci k ampicilinu. Tento gen umožňuje selektovat modifikované rostliny.

Tabulka I

Příklady geneticky modifikovaných rostlin již používaných v zemědělské velkovýrobě a jejich vlastnosti

GM rostlina	Vlastnost
Sója	zvýšená produkce olejové kyseliny, rezistentní vůči hmyzím škůdcům a herbicidům
Kukuřice	rezistentní vůči hmyzím škůdcům a herbicidům
Papaya	rezistentní vůči virům
Brambory	rezistentní vůči hmyzím škůdcům
Bavlna	rezistentní vůči hmyzím škůdcům
Řepka	rezistentní vůči herbicidům, zvýšené množství laurové kyseliny
Rajče	opožděné dozrávání

2.2. Produkce farmaceuticky významných látek

Oblast přípravy farmaceuticky významných látek zatím nevyvolává zdaleka takovou pozornost a negativní kritiku laické veřejnosti jako využití GMO v zemědělství. Je to pravděpodobně způsobeno hlavně tím, že studie vedoucí k získání takových GMO jsou zatím prováděny v laboratorním, maximálně poloprovodním měřítku. V první řadě se jedná o syntézu antigenů savčích patogenů, které by po konzumaci příslušné rostliny mohly vyvolat imunitní reakci a fungovat jako vakcíny. Kromě toho byla ověřována exprese imunoglobulinů, nebo jejich fragmentů¹⁴. V transgenních bramborách se podařilo exprimovat a ověřit funkčnost (u myší) vakcíny pro hepatitidu B (povrchový antigen), posléze byla stejná vakcína exprimována v tabáku. Kromě toho byly popsány např. exprese enterotoxinu (LT-B) z *E. coli*, nebo kapsidového proteinu Norwalk viru, glykoprotein B cytomegaloviru, podjednotka B toxinu cholery a některé další¹⁵.

2.3. Příprava transgenních rostlin pro účely fytořemediace

V posledním století průmyslová výroba, těžební průmysl a různé městské aktivity způsobily rozsáhlou kontaminaci půdy. Jednou z možností odstranění kontaminantů z půdy jsou fyzikálně-chemické postupy. Tyto techniky jsou ovšem ekonomicky náročné a většinou poškozují životní prostředí. Proto se v současné době výzkum orientuje na použití biologických metod. Jednou z nich je fytořemediace. Fytořemediace je definována jako užití zelených rostlin k přesunu, akumulaci a odstranění polutantů ze životního prostředí nebo zmírnění jejich škodlivého šíření¹⁶. Je to technologie, která může být uplatněna při odstraňování anorganických i organických polutantů přítomných v půdě, vodě a ve vzduchu¹⁷. V roce 1999 představovalo uplatnění fytořemediálních postupů tržní hodnotu vyčíslenou na 35 milionů amerických dolarů. Předpokládá se, že tato hodnota se během 5-ti let zvýší desetinásobně.

Je obecně platné, že fytořemediace je nejlépe využitelná na velkých plochách, kde kontaminace dosahuje maximálně do hloubky 5-ti metrů. Podle různých způsobů uplatnění se fytořemediace obecně dělí do několika oblastí^{16,18}.

Fytoextrakce (někdy nazývána fytoakumulace) je založena na schopnosti rostlin odebírat škodlivé látky z půdy a akumulovat je v nadzemních částech. Tato metoda je většinou spojována s odstraňováním těžkých kovů. Většina rostlin je schopna akumulovat těžké kovy přítomné v půdě nebo ve vodě. Rostliny obsahující těžké kovy jsou nakonec sklizeny, zpopelněny a uloženy na určitých místech, nebo se dále využijí ke znovuzískání kovů.

Fyotransformace je využití rostlin k přeměně organických polutantů.

Fyostimulace představuje stimulaci mikrobiální degradace působením rostlinných exsudátů.

Rhizofiltrace je využití rostlinných kořenů k absorpci nebo adsorpci polutantů, především kovů, ze spodních vod. Z mnoha testovaných rostlin se jako jedny z nejúčinnějších ukázaly hydroponicky pěstované slunečnice, které byly využity k odstranění radionuklidů z povrchové vody v okolí Černobylu¹⁹.

Fyostabilizace je metoda, kdy pomocí rostlin dochází k redukci dosažitelnosti a rozšiřování polutantů v životním prostředí.

Fyovolatilizace je příjem a převedení některých polutantů do plynné fáze pomocí rostlin.

Užití rostlin k odstranění polutantů ze vzduchu – představuje schopnost rostlin akumulovat, případně metabolizovat toxické látky ze vzduchu.

Předmětem základního výzkumu je určit, které rostliny se nejvíce hodí pro fytořemediace. Ne všechny druhy rostlin jsou schopné metabolizovat nebo akumulovat polutanty. Požadavkem na rostliny odstraňující těžké kovy je, aby rychle rostly v kontaminovaném prostředí, byly pokud možno rezistentní, akumulovaly toxické kovy a převáděly kationty nebo oxyanionty do sklíditelných (nadzemních) částí, nebo je přeměňovaly na méně toxické formy²⁰. Výhodné jsou také rostliny, které jsou schopné odstraňovat více než jeden polutant, protože znečištění nebývá většinou pouze jednou sloučeninou.

Při remediaci organických polutantů je žádoucí, aby je rostliny zcela mineralizovaly na netoxické produkty.

Je zřejmé, že polutanty mohou být odstraněny díky řadě biofyzikálních a biochemických procesů, sorpci, transportu

a translokaci, akumulaci nebo transformaci. Mnoho elementárních polutantů vstupuje do rostlin prostřednictvím základních transportních systémů určených pro transport živin. Řada xenobiotik je následně ukládána do vakuol jako ochrana proti toxickému působení. Zejména při akumulaci těžkých kovů, ale i odstraňování organických sloučenin je hlavním limitujícím faktorem použití rostlin dlouhá doba potřebná k dekontaminaci půdy. Proto je v současnosti uplatňována snaha šlechtěním či genovými manipulacemi získat rostliny upravené na míru požadavkům fytořemediace. V nedávné době se již objevily v odborné literatuře zmínky o možnosti zvýšení exprese existujících genů, nebo vnesení bakteriálních nebo savčích genů do rostlin, jejichž exprese by zajistila zvýšení přirozených reakcí a schopností rostlin. Zatím použití geneticky modifikovaných rostlin pro tento účel nebylo realizováno v praxi v širším měřítku, přesto je to však pouze otázka času, kdy dojde i k polním pokusům.

V tabulce II jsou uvedeny příklady transgenů a transgenních rostlin, které byly dosud připraveny pro zvýšení akumulace, rezistence a transportu některých anorganických polutantů. V tabulce III jsou pak dokumentovány příklady transgenních rostlin se zvýšenou schopností transformace organických polutantů.

Samotná exprese příslušných transgenů v rostlině a její zvýšená účinnost v praktickém měřítku pro fytořemediace znečištěných ploch nebyla zatím ověřována a pokusy, jež měly ukázat chování rostlin s „vylepšenými vlastnostmi“, byly většinou prováděny v laboratorním měřítku, kdy rostliny rostly na agaru nebo hydroponicky (viz tab. II, III). Na kontaminované půdě bylo testováno jen několik transgenních rostlin^{22,23,25}.

2.3.1. Fytořemediace prostředí znečištěného rtuť

V dřívějších dobách byla v chemickém, papírenském a těžebním průmyslu hojně využívána rtuť. Vzhledem k nedostatku znalostí o toxicitě rtuť a potenciálním dopadu na životní prostředí, docházelo k vypouštění odpadních vod do blízkých vodních zdrojů. To způsobilo dvě rozsáhlé otravy lidí v Japonsku v 60-tých letech. Klinické výzkumy ukazují, že organické deriváty, jako např. kation methylrtuti (CH_3Hg^+), jsou základní formy rtuť, které se akumulují v rybách a v jejich konzumentech a způsobují neurodegenerativní symptomy²⁶.

Methylrtuť je vzácnější odpadní produkt, ale může být produktem mikrobiální konverze anorganické rtuť. Kation CH_3Hg^+ je v sedimentech méně pevně vázán v komplexech s organickými a anorganickými ligandy než sůl dvojmočné rtuť Hg(II) , a proto je více biologicky dostupný²⁷. Kromě toho je více rozpustný v lipidech, což ještě umocňuje jeho toxicitu.

Vzhledem k vysoké ceně těžby a skladování nebezpečných sedimentů nebylo doposud remediováno mnoho míst kontaminovaných sloučeninami rtuť.

Gramnegativní bakterie, které rostou v půdě kontaminované rtuť, mají vyvinutou rezistenci ke rtuť, která je geneticky kódována *mer* operonem⁵. Ten obsahuje 5 až 6 genů (citlivé regulátorové proteiny, transportní proteiny, organomerkurilyasu a reduktasu rtuť). V rámci tohoto operonu jsou dva geny, *merA* a *merB*, které kódují enzymy katalyzující reakce přeměny rtuť. *MerB* kóduje organomerkurilyasu, která katalyzuje štěpení vazby uhlík–rtuť v mnoha organortuťných sloučeninách, jako je acetát methylrtuť a fenylrtuť.

Tabulka II

Příklady transgenních rostlin se zvýšenou schopností transformovat organické polutanty

Transgen	Produkt	Zdroj	Transgenní rostlina	Účel/efekt	Kultivační medium
<i>PETNred</i> ³¹	pentaerythritol tetranitrát reduktasa	<i>Enterobacter cloacae</i> PB2	<i>N. tabacum</i>	odbourávání výbušnin, schopnost růstu na některých výbušninách	agar
<i>cyp2E1</i> ³⁰	dehalogenasa	savčí	<i>N. tabacum</i>	640-ti násobná oxidace TCE, debrominace EDB	hydroponie
<i>bph C</i> ³³	cytP450 2E1			odbourávání hydroxyderivátů PCB, zvýšení rezistence	agar
	dihydroxybifenyldioxygenasa	<i>Comamonas testosteroni</i>	<i>N. tabacum</i>		

Tabulka III

Příklady transgenních rostlin se zvýšenou akumulací, rezistencí nebo zvýšeným transportem těžkých kovů, (převzato a upraveno dle Krämer a Chardonnens²¹)

Transgen	Produkt	Zdroj	Transgenní rostlina	Účel/efekt	Kultivační medium
<i>mer A</i> ⁵	Hg (II) reduktasa	G ⁻ bakterie	<i>Liriodendron tulipifera</i> <i>Nicotiana tabacum</i>	zvýšená akumulace Hg + vypařování	agar,
<i>mer A</i> <i>mer B</i> ²⁰	Hg (II) reduktasa lyasa	G ⁻ bakterie	<i>Arabidopsis thaliana</i>	zvýšená tolerance Hg + vypařování	agar, roztok
<i>APS1</i>	ATP sulfurylase	<i>A. thaliana</i>	<i>Brassica juncea</i>	dvojnásobná akumulace Se	hydroponie
<i>MT-I</i>	MT ^a	myš	<i>N. tabacum</i>	20-ti násobná rezistence Cd	agar
<i>CUP1</i>	MT ^a	<i>S. cerevisiae</i>	<i>B. oleracea</i>	16-ti násobná rezistence Cd	hydroponie
<i>HisCUP1</i> ^{22,25}	polyHis-MT ^a	<i>S. cerevisiae</i>	<i>N. tabacum</i>	akumulace Cd 190 %	agar, půda
<i>gsh2</i>	GSH-synthasa	<i>E. coli</i>	<i>B. juncea</i>	akumulace Cd 125 %	hydroponie
<i>gsh 1</i>	γ-Glu-Cys synthasa	<i>E. coli</i>	<i>B. juncea</i>	akumulace Cd 190 %	hydroponie
<i>NtCBP4</i>	kanál pro M ⁺ ^b	<i>N. tabacum</i>	<i>N. tabacum</i>	tolerance Ni, akumulace Pb 200 %	hydroponie
<i>ZAT1</i>	transport Zn	<i>A. thaliana</i>	<i>A. thaliana</i>	zvýšení tolerance Zn	hydroponie
<i>ACC</i> ²³	ACC ^c deaminasa	bakterie	<i>Lycopersicon esculentum</i>	zvýšená rezistence, akumulace Cd, Co, Cu, Ni, Pb, Zn	půda
<i>FRO2</i> ²⁴	reduktasa železitého chelátu	<i>A. thaliana</i> <i>S. cerevisiae</i>	<i>A. thaliana</i> <i>N. tabacum</i>	redukce Fe(III) na Fe (II) na povrchu kořenů	hydroponie

^a MT = metalothionein, ^b M⁺ = kation, ^c ACC = aminocyklopropan-karboxylová kyselina

Produkt této reakce, sůl dvojmocné rtuti Hg(II), je substrátem pro enzym reduktasu iontů rtuti, kódovanou *merA*. Tento enzym je rozpustná NADPH-dependentní, disulfidová oxidoreduktasa obsahující FAD, která katalyzuje redukci Hg(II) na méně toxickou Hg(0) (schéma 1).

Tyto reakce snižují relativní toxicitu kovu a umožňují vypařování ze systému. Ovšem využití bakterií je z hlediska velké plochy neefektivní, a proto byla navržena remediace takto znečištěných půd a sedimentů pomocí geneticky modifikovaných rostlin.

Při jejich přípravě byla prvním krokem exprese *merA* z bakteriálního transposonu Tn21 v rostlinách^{5,28}. Ačkoliv byl použit velmi účinný rostlinný systém, nebyl detegován žádný

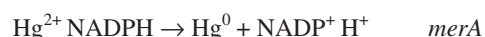
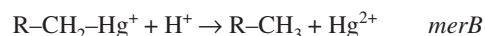


Schéma 1

merA-protein. Původní bakteriální *merA* je GC bohatý (67 %) v porovnání s rostlinnými geny, navíc má *merA* hojnost CpG dinukleotidových sekvencí, které jsou potenciálními místy pro DNA metylaci a následně tlumení genů. Proto Rugh a spol.²⁸ zkonstruovali mutantní *merA* s modifikovaným kódujícím úsekem (*merA9*) a vložili jej do rostliny *Arabidopsis thaliana*. Semena klíčila a sazeničky rostly v médiu obsahujícím až 100 μM rtuti (HgCl₂). Transgenní rostlinky uvolňovaly dva až třikrát více elementární rtuti Hg⁰ než kontrolní rostliny. Rostliny se také ukázaly jako rezistentní k toxické hladině sloučenin obsahujících Au³⁺. K určení efektivity využití transgenních rostlin pro fytoremediace znečištění rtutí byl vybrán žlutý topol (*Liriodendron tulipifera*) pro své žádoucí biologické a strukturální charakteristiky²⁸. Bylo prokázáno, že transgenní topol uvolňuje desetkrát více elementární rtuti Hg⁰ v porovnání s kontrolní rostlinou. Ačkoliv nebyl tento systém testován v polních podmínkách, z výsledků je zřejmé, že genetické inženýrství může zvýšit schopnost rostlin odstraňovat polutanty z půdy. Vzhledem k tomu, že uvolňování rtuti do ovzduší

je z ekologického hlediska nežádoucí, byly připraveny další rostliny, které rtuť akumulují.

2.3.2. Zvýšená akumulace těžkých kovů

V přírodě bylo popsáno několik druhů rostlin s vysokou schopností akumulovat těžké kovy. Tyto tzv. hyperakumulátory jsou schopny hromadit mnohonásobně větší množství kovu než jiné druhy rostoucí ve stejných podmínkách na téže lokalitě. Hyperakumulátory, nalezené většinou v oblastech, kde na povrch vystupuje ruda s vysokým obsahem kovu (např. Kongo, Nová Kaledonie apod.), se však obvykle vyznačují tvorbou malého množství biomasy a zřejmě se nehodí k použití pro fytořemediaci. Mechanismy hyperakumulace nejsou dostatečně prozkoumány, avšak jsou snahy zvýšit účinnost akumulace těžkých kovů u rostlin vytvářejících značné množství biomasy. S tímto cílem byly připraveny transgenní rostliny se zvýšenou tvorbou glutathionsynthasy či fytochelatinsynthasy, což v obou případech vedlo ke zvýšení akumulace Cd (cit.²²), a jsou studovány transgenní rostliny s vnesenými geny pro bílkoviny transportující kovy přes membrány, viz tabulka III. Několik pracovišť vneslo do rostlin geny kódující několik typů metalothioneinů (savčí, kvasničné, hmyzí i humánní), tato snaha vedla však většinou pouze ke zvýšení rezistence vůči některým těžkým kovům^{22,24}, nikoliv ke zvýšení akumulace. Pro zvýšení vazebné kapacity byla studována možnost zavedení další vazebné oblasti s vysokou afinitou k těžkým kovům do implementované bílkoviny, jak popsali Macek a spol.²² Takto byl kombinací genu *CUP1* pro kvasničný metalothionein ze *Saccharomyces cerevisiae* a genu pro histidinovou kotvu z komerčního plazmidu *pTrcHis* (Invitrogene) připraven konstrukt vnesený pomocí *A. tumefaciens* do tabáku²². Srovnání geneticky modifikovaných linií tabáku s kontrolními rostlinami ukázalo zvýšení rezistence a dobrý růst v půdě kontaminované kadmii i výrazné zvýšení akumulace kadmia při kultivaci v hydroponii a v písku s kadmii (190 % kontroly)²⁵.

2.3.3. Biodegradace výbušnin

Dalším aktuálním problémem je znečištění životního prostředí výbušninami. Mezi obvyklé výbušniny řadíme: 2,4,6-trinitrotoluen (TNT), hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazin (RDX), oktahydro-1,3,5,7-tetraazocin (HMX) a jejich aminoderiváty²⁹. Studie ukázaly, že rostliny mohou transformovat TNT bez pomoci mikroorganismů. Většina studií se zaměřila právě na TNT, ačkoliv se jen zřídka vyskytuje sám na znečištěných místech.

Některé experimenty se zabývají studiem schopností vodních rostlin *Myriophyllum spicatum*, *Myriophyllum aquaticum* a hairy root kultur *Catharanthus roseus* absorbovat a transformovat TNT²⁹. Bylo prokázáno, že tyto rostliny jsou schopné transformovat TNT rychle a hlavně bez akumulace aminonitrotoluenů nebo azoxy dimérů. Vzhledem k výše uvedenému poznatku se další studie zaměřily na určení času potřebného k transformaci TNT a stanovení jeho vedlejších produktů³⁰. Paralelně dochází ke stanovení kinetických parametrů degradace aminodinitrotoluenů (ADNT-2 isomery) na diaminonitrotoluen (DANT-2 isomery) a další produkty, pravděpodobně triaminotoluen (TAT).

French a spol.³¹ studovali degradaci zbytků výbušnin po-

mocí půdních bakterie *Enterobacter cloacae* PB2 a prokázali schopnost této bakterie využít nitráty výbušnin jako pentaerythritoltetranitrát (PETN) a glyceroltrinitrát (GTN) jako jediný zdroj dusíku k růstu. Denitrifikace je účinná díky NADPH-dependentní PETN-reduktase. Studie ukazují, že PETN-reduktasa je schopná degradovat aromatické výbušniny jako 2,4,6-trinitrotoluen, nejdůležitější a trvalý polutant vojenských území. Již delší dobu je známo, že rostlinné buňky mohou denitrifikovat GTN. Předpokládá se, že denitrifikace probíhá glutathion-dependentním mechanismem, podobně jako je tomu u savčích buněk. Transgenní tabák (*Nicotiana tabacum* cv. xanthi) byl oproti kontrolním rostlinám schopen klíčit a růst v médiu obsahujícím 1 mM GTN nebo 0,05 mM TNT. Přestože nebyly identifikovány produkty redukce TNT PETN reduktasou, je zřejmé, že jsou menšími inhibitory klíčení rostlin než produkty normálního metabolismu TNT v rostlinách (aminodinitrotolueny a diaminodinitrotolueny), které jsou mnohem toxičtější než výchozí látka.

Z výše uvedeného tedy vyplývá možné využití exprese PETN reduktasy v rostlinách k detoxifikaci TNT reziduí. Předpokládá se také, že exprese PETN reduktasy může vést k rezistenci k nitroaromatickým herbicidům, což by mělo nemalý význam pro zemědělství.

2.3.4. Využití cytochromu P450 pro bioremediace

Cytochrom P450 je známý svou schopností podílet se na oxidaci širokého okruhu sloučenin, mezi které patří i xenobiotika³². Cytochrom P450 se nachází v mikroorganismech, stejně tak i v rostlinách a zvířatech, a podílí se zde na mnoha typech chemických transformací, jako například alifatická hydroxylace, epoxidace, dealkylace, dehalogenace a jiné různé mechanismy určené k inaktivaci a detoxifikaci. Mnohé z těchto reakcí jsou klíčem pro bioremediace. Mikrobiální P450 jsou zvláště užitečné pro biodegradace, neboť jsou všudypřítomné a mají silný redukční a oxidační potenciál. Nedávné studie ukázaly schopnost přírodně se vyskytujících P450 degradovat sloučeniny jako atrazin, thiokarbamatové herbicidy a haloalkany.

Byla prokázána schopnost cytochromu P450 IIE1 oxidovat trichlorethylen (TCE), tetrachlormethan (TCM), dibromethylen (DBE) a některé další chlorované sloučeniny³⁰. TCE je oxidován pomocí cytochromu P450 IIE1 na chloral, který je dále metabolizován na trichlorethanol, trichloroctovou kyselinu, popřípadě oxid uhličitý, chloridový ion, a vodu. Tento poznatek vedl k zavedení genu pro cytochrom P450 IIE1 do tabáku a topolů. Pro zajištění aktivity a stability enzymu byly současně s ním vloženy geny pro oxidoreduktasu a cytochrom B5. Tyto tři proteiny tvoří komplex v buněčných mikrosomech. Vytvořené transgenní rostliny budou testovány na zvýšenou schopnost metabolizovat TCE a jiné sloučeniny.

3. Výhody a nevýhody použití GMO

Pro přípravu a využití transgenních rostlin je mnoho důvodů. Jsou to především možnost vyšších výtěžků zemědělských plodin na téže ploše, příprava odrůd odolnějších vůči vnějším poškozením včetně škůdců, zvýšení nutriční hodnoty potravin, produkce nových látek (monoklonální protilátky, vakcíny, enzymy, inzulin) a obnovení půdního fondu znečiš-

těného cizorodými látkami. Odstranění znečištění je podmínkou pro zabránění vstupu toxických látek do potravních řetězců, což přispívá k zachování zdraví člověka a biologické diverzity. Z tohoto přehledu je zřejmé, že transgenní rostliny našly uplatnění v praxi a své přívržence. Jako nevýhody jsou oponenty GMO uváděny především tyto:

- 1) Vzhledem ke složitosti rostlinného genomu nelze odhadnout všechny změny a jejich důsledky,
- 2) Možnost horizontálního přenosu a vznik plevelných rostlin odolných vůči hmyzím škůdcům a virům,
- 3) Nutnost používání stále většího množství herbicidů díky vzniku nových odrůd rostlin rezistentních vůči obvyklým herbicidům,
- 4) Vznik alergických reakcí na produkty GMO,
- 5) Nahrazení bohaté místní flóry monokulturami – ztráta biodiverzity,
- 6) Vyvolání nežádoucí rezistence k antibiotikům u lidí, zvířat, eventuálně mikroorganismů,
- 7) Snaha firem produkujících GMO prosadit své zájmy přes negativní efekty, které by se zavedením GMO mohly objevit.

Značnou část těchto argumentů lze však při dostatečné analýze problému a detailní diskusi vyvrátit. Výhody pak lze obecně shrnout do následujících bodů:

- 1) Zvýšení růstu a produkce využitelného rostlinného produktu,
- 2) Zvýšení kvality včetně nutričních a skladovacích vlastností,
- 3) Zvýšení schopnosti adaptovat se na specifické podmínky životního prostředí způsobujícího stres, včetně prostředí kontaminovaného anorganickými a organickými polutanty,
- 4) Zvýšení rezistence vůči nemocem a rostlinným škůdcům,
- 5) Nižší spotřeba agrochemikálií a redukce nežádoucích přístupů používaných v zemědělství ohrožujících životní prostředí, což výrazně ohrožuje zisky firem produkujících herbicidy atd.,
- 6) Produkce nových látek,
- 7) Využití nových surovin,
- 8) Možnosti účinnějších a rozsáhlejších fyto-remediací.

4. Závěr

Díky nejruznějším haváriím a nešetrným výrobním technologiím narůstá znečištění životního prostředí zatím stále rychleji, než se je daří odstraňovat. Proto jsou zapotřebí nové postupy remediace, účinné a přitom natolik ekonomicky přijatelné, aby mohly být použity v dostatečně velkém měřítku. Klasické chemické a fyzikální metody nelze z ekonomických důvodů použít například k remediaci rozlehlých osevních ploch, odkud toxické látky vstupují přímo do potravinářských surovin. Použití rostlin a jejich kořenového systému při odstraňování polutantů a xenobiotik z půdy, vody, sedimentů i vzduchu; fyto-remediace a rhizo-remediace patří k přístupům, které mohou přispět k řešení problému. Podle dosavadních výsledků může být využití transgenních rostlin významnou součástí zmíněných technologií. Pouze snižování kontaminace prostředí může zabránit vstupu toxických látek do potravního řetězce, přispět k zachování biologické diverzity (kterou ohrožuje jistě více znečištění prostředí než použití transgenních plodin), a tak přispět k udržitelnému rozvoji.

Autoři děkují za podporu svého výzkumu grantu 203/99/1628 GA ČR a výzkumným záměrům J19/98:2232500003 a Z4-055-905.

LITERATURA

1. Koprowski H., Yusibov V.: *Vaccine* 19, 2735 (2001).
2. Mason H., Arntzen C.: *Science* 268, 714 (1995).
3. McGarvey B., Hammond J., Dienet M., Hooper D., Fu Z., Dietzschold B., Koprowski H. a Michaels F.: *Biotechnology* 13, 1484 (1995).
4. Poirier Y., Dennis D., Klomparens K., Somerville C.: *Science* 256, 520 (1992).
5. Rugh C. L., Wilde H. D., Stack N. M., Thompson D. M., Summers A. O., Meagher R. B.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93, 3182 (1996).
6. Barrett C., Cobb E., McNicol R., Lyon G.: *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 47, 135 (1997).
7. Ondřej M., Drobník J., Gartland K. M. A., Gartland J. S.: *Genové inženýrství, učební text v rámci programu TEMPUS PHARE*. VŠCHT, Praha 1999.
8. Gelvin S. B.: *Curr. Opin. Biotechnol.* 9, 227 (1998).
9. Maliga P.: *Cold Spring Harbor Course Molecular and Development Biology of Plants*, 1990.
10. Old R. W., Primrose S. B.: *Blackwell Scientific Publications*, str. 268. Oxford 1994.
11. Meyers R. A.: *Molecular Biology and Biotechnology*, str. 689. Verlag Chemie Publishers, New York 1995.
12. Flavell R. B.: *TIBTECH* 13, 313 (1995).
13. Stilwell D.: *Biochemist* 1997, 20.
14. Ma J. K., Hiatt A., Hein M., Vine N. D., Wang F., Stabila P., van Dolleweerd C., Mostov K., Lehner T.: *Science* 268, 716 (1995).
15. Ma J. K. C.: *Nat. Biotechnol.* 2000, 18.
16. Cunningham S., Berti W., Huang J.: *TIBTECH* 13, 393 (1995).
17. Macek T., Káš J., Macková M.: *Biotechnol. Adv.* 2000, 23.
18. Salt D., Blaylock M., Kumar N., Duschenkov V., Ensley B., Chet I.: *Biotechnology* 13, 468 (1995).
19. Chaney R. L., Malik M., Li Y. M., Brown S. L., Angle J. S. Baker A. J. M.: *Curr. Opin. Biotechnol.* 8, 279 (1997).
20. Meagher R. B.: *Plant Biotechnol.* 3, 153 (2000).
21. Krämer U., Chardonens A.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 55, 661 (2001).
22. Macek T., Macková M., Burkhard J., Demnerová K., v knize: *Effluents from Alternative Demilitarization Technologies* (Holm F. W., ed.), str. 71. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht 1998.
23. Grichko V. P., Filby B., Glick B. R.: *J. Biotechnol.* 81, 45 (2000).
24. Kärenlampi S., Schat H., Vangronsveld J., Verkleij J. A. C., Van der Lelie D., Mergeay M., Tervahauta A. I.: *Environ. Pollut.* 107, 225 (2000).
25. Macek T., Macková M., Pavlíková D., Száková J., Truksa M., Cundy A. S., Kotrba P., Yancey N., Scouten W. H.: *Acta Biotechnol.*, v tisku.
26. Bizily S., Rugh C., Meagher R.: *Nat. Biotechnol.* 18, 213 (2000).
27. Heaton A. C. P., Rugh C. L., Wang N., Meagher R. B.: *J. Soil Contamin.* 7, 497 (1998).
28. Rugh C., Senecoff J., Meagher R., Merkle S.: *Nat. Biotechnol.* 16, 925 (1998).

29. Rivera R., Medina V. F., Larson S. L., McCutcheon S. C.: *J. Soil Contamin.* 7, 511 (1998).
30. Newman L. A., Doty S. L., Gery K. L., Heilman P. E., Muiznieks I., Shang T. Q., Siemieniec S. T., Strand S. E., Wang X., Wilson A. M., Gordon M. P.: *J. Soil Contamin.* 7, 531 (1998).
31. French Ch. E., Rosser S. J., Davies G. J., Nicklin S., Bruce N. C.: *Nat. Biotechnol.* 17, 491 (1999).
32. Kellner D. G., Maves S. A., Sligar S. G.: *Curr. Opin. Biotechnol.* 8, 274 (1997).
33. Frančová K., Borovka R., Macková M., Macek T.: *Acta Biotechnol.*, v tisku.

K. Frančová^a, T. Macek^b, K. Demnerová^a, and M. Macková^a (^a*Department of Biochemistry and Microbiology, Faculty of Food and Biochemical Technology, Institute of Chemical Technology, Prague,* ^b*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic,*

***Prague*): Transgenic Plants – a Potential Tool for Decontamination of Environmental Pollutants**

Transgenic plant technology showed many obvious advantages over conventional plant breeding approaches to crop improvement. Recent discoveries allowed the engineering of new transgenic plants generating desirable products, such as enzymes, polymers and vaccines. Among new approaches, the use of transgenic plants specifically tailored for the bioremediation of organic pollutants and heavy metals have recently occurred. This paper gives an overview of results of present research in phytoremediation of the polluted environment using transgenic plants and their improved properties. Preparation and properties of genetically modified plants changing mercury into less toxic forms, plants with improved abilities of Cd accumulation, degrading explosives (TNT) or other substances and oxidising TCE (trichloroethylene) are described. Advantages and disadvantages of the use of GM plants are discussed.

The Organising Committee and the Slovenian Chemical Society

cordially invite you to participate at
the 1st Central European Conference

“Chemistry towards Biology”

The conference will be held from **8 to 12 September 2002** in Portorož, Slovenia.
To receive more detailed information please connect: <http://www.portoroz2002.ki.si>.

Prof. Venčeslav Kaučič
President of International
Programme Committee

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

STANOVENIE OBSAHU BIOPRÍSTUPNÉHO SELÉNU V PŮDACH METÓDOU AAS

DANIEL BAJČAN^a, MÁRIA ŽEMBERYOVÁ^b,
JÁN KLIMEK^c a DARINA RÚRIKOVÁ^b

^aChemický ústav, ^bKatedra analytickej chémie, Prírodovedecká fakulta, Mlynská dolina CH-2, 842 15 Bratislava, ^cVýskumný ústav chemickej technológie, Nobelova 34, 836 03 Bratislava, Slovenská republika, e-mail: bajcan@fns.uniba.sk

Došlo dňa 18.V.2000

Kľúčové slová: selén, biopristupnosť, pôda, extrakcia, AAS

Úvod

V posledných dvoch desaťročiach sa venuje zvýšená pozornosť vplyvu výživy na zdravie človeka, najmä kvôli výraznému nárastu počtu nádorových a kardiovaskulárnych ochorení. Uvedeným ochoreniam sa dá predchádzať zvýšeným príjmom antioxidantov, kde patrí aj selén. Selén je základnou zložkou antioxidantného enzýmu glutationperoxidázy, ktorá katalyzuje redukciu organických peroxidov a peroxidu vodíka, čím chráni bunky pred oxidatívnym poškodením. Bola dokázaná priama súvislosť medzi nízkou koncentráciou selénu v krvi a zvýšeným počtom srdcovo-cievnych a karcinogénnych ochorení¹.

Množstvo Se v ľudskom organizme je dané primárne jeho príjmom z potravín a sekundárne fyziologickým stavom organizmu. Rozdiely v hladinách selénu v potravinách vyplývajú z rôzneho obsahu Se v pôde, ktorý určuje množstvo Se v celom potravinovom reťazci. Celkový obsah selénu v pôde je nedostatočným ukazovateľom jeho biopristupnosti. Rastliny môžu prijímať selén iba v určitých formách (tzv. biopristupné alebo uvoľnitelné formy). Rozlíšenie rozdielnych chemických foriem selénu, a zvlášť formy biopristupnej, je preto veľmi dôležité. Selén sa v pôde nachádza vo viacerých formách, a to vo forme voľných iónov (vodorozpustný), vymeniteľný, viazaný v organickej hmote, viazaný na rôzne minerály, ako sú sulfidy, karbonáty alebo oxidy, prípadne sa vyskytuje v reziduálnom zvyšku. Len prvé dve formy selénu – vodorozpustný a vymeniteľný sú biopristupné pre rastliny. Prijateľnosť selénu rastlinami súvisí s niektorými fyzikálno-chemickými vlastnosťami pôd: pH, redox potenciál, obsah ťvých minerálov, množstvo oxidov železa atd². Najvýznamnejší je efekt pH: v kyslých a neutrálnych pôdach sa selén nachádza viac vo forme selenidov a seleničitanov, pričom dochádza k silnej sorbcii prevažnej časti seleničitanov na oxidy a oxid-hydroxidy železa [Fe(OH)SeO₃]. Selén sa takto stáva pre rastliny neprístupný. V zásaditých pôdach sa Se vyskytuje vo väčšom množstve vo forme selenanov, ktoré sú dobre prístupné pre rastliny.

Na stanovenie množstva uvoľnitelných foriem prvkov

v pôdach sa používajú viackrokové, ale najmä jedнокrokové extrakčné postupy s vhodne zvolenými extrakčnými činidlami. Používané extrakčné činidlá pri jedнокrokových extrakciách sú roztoky neutrálnych solí (CaCl₂, NaNO₃, MgCl₂, KCl, CH₃COONH₄), roztoky chelatačných činidiel (EDTA, DTPA), roztoky kyselín (HNO₃, HCl, CH₃COOH), zásadité roztoky (NaHCO₃, Na₂CO₃). Stanoveniu biopristupného selénu v pôdach sa venuje niekoľko prác a najčastejšie používanými činidlami sú rôzne fosforečnanové roztoky³⁻⁵.

Na stanovenie selénu metódou AAS je možné použiť: plameňovú techniku (FAAS), techniku elektrotermickej atomizácie (ETAAS) a techniku generovania hydridov⁶ (HG AAS). Z nich je najpoužívanejšou HG AAS, ktorá býva spojená s prietokovou injekčnou analýzou (FI HG AAS). Medzi jej hlavné výhody patrí: vysoká citlivosť, nízka cena stanovenia a rýchlosť.

Experimentálna časť

Použitie prístroje a zariadenia

Na stanovenie selénu bol použitý atómový absorpčný spektrometer Perkin-Elmer 1100B so zariadením na generovanie a atomizáciu hydridov Perkin-Elmer FIAS-200 s automatickým dávkovačom Perkin-Elmer AS-90. Na prípravu pôdných výluhov bola použitá trepačka KS 125 fy Ika Labortechnik (SRN) a odstredivka K70D fy MLW (NDR).

Podmienky merania

Na stanovenie selénu bola použitá katódová výbojka, prúd lampy 18 mA, vlnová dĺžka 196,0 nm, šírka štrbiny 2,0 nm, prietok argónu 60 ml.min⁻¹ a dávkovaný objem vzorky 0,5 ml. Atomizačným prostredím bola kremenná kveta vyhrievaná na 900 °C. Nosným roztokom bola 3 % HCl a redukčným činidlom bol 0,2 % NaBH₄ v 0,05 % NaOH.

Chemikálie a roztoky

EDTA p.a. (Lachema Brno, ČR), amoniak konc. p.a. (Slavus, SR), kyselina octová konc. p.a. (Slavus, SR), kyselina dusičná konc. p.a. (Slavus, SR), kyselina chlorovodíková konc. p.a. (Slavus, SR), dihydrogénfosforečnan draselný p.a. (Lachema Brno, ČR), hydrogénfosforečnan draselný p.a. (Lachema Brno, ČR), hydroxid sodný p.a. (Merck, SRN), tetrahydridoboritan sodný p.a. (Merck, SRN), deionizovaná voda (Water Pro PS, Labconco, USA). 0,05 mol.l⁻¹ EDTA, pH 7 upravené amoniakom; 0,43 mol.l⁻¹ kyselina octová; 0,1 a 1,0 mol.l⁻¹ KH₂PO₄; 2,0 mol.l⁻¹ HNO₃; 0,05 mol.l⁻¹ KH₂PO₄ + 0,05 mol.l⁻¹ K₂HPO₄ pH 7; kalibračný roztok selénu (0,5–8 µg.l⁻¹) v deionizovanej vode získaný riedením základného roztoku Se o konc. 1000 mg.l⁻¹ (Merck, SRN); roztoky selénu (8 µg.l⁻¹) v: 0,02; 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 1,0 mol.l⁻¹ KH₂PO₄; 0,2; 0,4; 0,6 mol.l⁻¹ CH₃COOH; 0,2; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 mol.l⁻¹ HNO₃; 0,025; 0,05 mol.l⁻¹ EDTA; deionizovanej vode.

Tabuľka I
Analyzované pôdy a niektoré ich charakteristiky¹²

Pôda	Miesto odberu/ okres	Pôdny typ	pH/H ₂ O	Celkový obsah Se [mg.kg ⁻¹]	Poľnoh. využitie	Hĺbka odberu [mm]
MI-094	Vrbnica	fluvizem	5,70	1,8	orná	0–125
NZ-053	Michalovce	glejová			pôda	
	Komoča	čiernica	6,60	2,5	orná	0–125
	N. Zámky	glejová			pôda	
HN-070	Ubla	kambizem	5,73	3,4	pasienky	0–125
	Humenné	pseudoglejová				
ZH-071	B. Hodruša	kambizem	4,91	1,8	pasienky	0–125
	Žiar n. Hronom	typická				

Charakterizácia vzoriek a referenčných materiálov

Analyzované vzorky pôd boli odobraté a dodané VÚPOP, Bratislava, SR a ich charakteristiky sú uvedené v tabuľke I.

Príprava pôdnych výluhov použitím extrakcie

Na prípravu pôdnych výluhov sa použilo 6 postupov jednokrokových extrakcií. Prvé dva s 0,43 mol.l⁻¹ kys. octovou a s 0,05 mol.l⁻¹ EDTA (amónna soľ), pH 7 boli doporučené Európskou komisiou „Bureau of reference“ (BCR), overené 30 laboratóriami a boli použité na prípravu certifikovaných referenčných materiálov pôd pre biopristupné obsahy niektorých prvkov. Ďalšie tri extrakčné postupy s 0,1 mol.l⁻¹ KH₂PO₄; 1,0 mol.l⁻¹ KH₂PO₄ resp. 0,05 mol.l⁻¹ KH₂PO₄ + 0,05 mol.l⁻¹ K₂HPO₄, pH 7 (ďalej bude používaná skratka 0,1 mol.l⁻¹ KH₂PO₄ + K₂HPO₄) vychádzajú zo sekvenčných extrakcií vyvinutých pre selén. Posledný extrakčný postup s 2 mol.l⁻¹ HNO₃ je používaný v ČR na stanovenie množstva maximálne možných rastlinám prístupných foriem niektorých prvkov⁷ a je legislatívne zakotvený.

1) extrakcia roztokom CH₃COOH

Na extrakciu sa použil 1 g zhomogenizovanej pôdnej vzorky, pričom celý postup sa uskutočnil v teflónových nádobkách. Navážená vzorka sa extrahuje so 40 ml 0,43 mol.l⁻¹ kyseliny octovej 16 hodín na mechanickej trepačke pri 300 ot.min⁻¹ pri teplote 20 °C. Potom sa zmes 15 min odstreďuje na centrifúge pri 3000 ot.min⁻¹. Nakoniec sa extrakt prefiltruje cez filtračný papier Whatman 42 do PE nádobiek a uskladní sa do stanovenia v chladničke⁸.

2) extrakcia roztokom EDTA

Na extrakciu sa použilo 2 g zhomogenizovanej pôdnej vzorky, pričom celý postup sa uskutočnil v teflónových nádobkách. Navážená vzorka sa extrahuje s 20 ml 0,05 mol.l⁻¹ EDTA, pH 7, 2 hodiny na mechanickej trepačke pri 300 ot.min⁻¹ pri teplote 20 °C. Potom sa zmes 15 min odstreďuje na centrifúge pri 3000 ot.min⁻¹. Nakoniec sa extrakt prefiltruje

cez filtračný papier do PE nádobiek a uskladní sa do stanovenia v chladničke⁸.

3) extrakcia 0,1 mol.l⁻¹ roztokom KH₂PO₄

Na extrakciu sa použilo 5 g zhomogenizovanej pôdnej vzorky, pričom celý postup sa uskutočnil v teflónových nádobkách. Navážená vzorka sa extrahuje s 25 ml 0,1 mol.l⁻¹ KH₂PO₄ 2 hodiny na mechanickej trepačke pri 300 ot.min⁻¹ pri teplote 20 °C. Potom sa zmes 15 min odstreďuje na centrifúge pri 3000 ot.min⁻¹. Nakoniec sa extrakt prefiltruje cez filtračný papier do PE nádobiek a uskladní sa do stanovenia v chladničke³.

4) extrakcia 1,0 mol.l⁻¹ roztokom KH₂PO₄

Na extrakciu sa použilo 5 g zhomogenizovanej pôdnej vzorky, pričom celý postup sa uskutočnil v teflónových nádobkách. Navážená vzorka sa extrahuje s 25 ml 1,0 mol.l⁻¹ KH₂PO₄ 2 hodiny na mechanickej trepačke pri 300 ot.min⁻¹ pri teplote 20 °C. Potom sa zmes 15 min odstreďuje na centrifúge pri 3000 ot.min⁻¹. Nakoniec sa extrakt prefiltruje cez filtračný papier do PE nádobiek a uskladní sa do stanovenia v chladničke⁴.

5) extrakcia 0,1 mol.l⁻¹ roztokom KH₂PO₄ + K₂HPO₄

Na extrakciu sa použilo 5 g zhomogenizovanej pôdnej vzorky, pričom celý postup sa uskutočnil v teflónových nádobkách. Navážená vzorka sa extrahuje s 25 ml 0,1 mol.l⁻¹ KH₂PO₄ + K₂HPO₄, pH 7, 2 hodiny na mechanickej trepačke pri 300 ot.min⁻¹ pri teplote 20 °C. Potom sa zmes 15 min odstreďuje na centrifúge pri 3000 ot.min⁻¹. Nakoniec sa extrakt prefiltruje cez filtračný papier do PE nádobiek a uskladní sa do stanovenia v chladničke⁵.

6) extrakcia 2,0 mol.l⁻¹ roztokom HNO₃

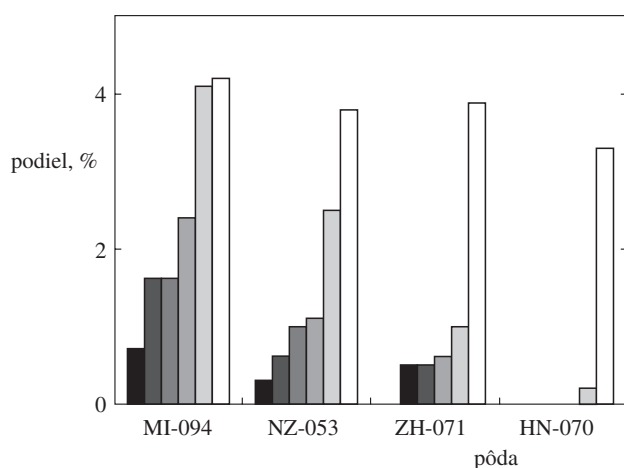
Na extrakciu sa použilo 2 g zhomogenizovanej pôdnej vzorky, pričom celý postup sa uskutočnil v teflónových nádobkách. Navážená vzorka sa zaleje s 20 ml 2,0 mol.l⁻¹ HNO₃, nádoba sa uzavrie a zmes sa nechá 16 hodín stáť. Potom sa zmes pretrepáva 2 hodiny na mechanickej trepačke pri 300 ot.min⁻¹

Tabuľka II

Výsledky stanovenia extrahovateľného selénu ($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$) vo vybraných pôdach použitými extrakčnými činidlami (AVG – aritmetický priemer, RSD – relatívna smerodajná odchýlka (%), LOD – detekčný limit stanovenia, ND – nedetekovateľné)

Vzorka	$1,0 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{KH}_2\text{PO}_4$		$0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{KH}_2\text{PO}_4$		$0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{K}_2\text{HPO}_4$		
	AVG	RSD	AVG	RSD	AVG	RSD	
MI-094	74	7,2	29	6,7	44	3,3	
NZ-053	64	5,5	25	7,8	27	10,8	
ZH-071	18	15,8	9	11,8	10	16,8	
HN-070	8	14,4	ND	–	ND	–	
LOD	2,9		1,6		1,2		

Vzorka	$0,43 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{HAc}$		$0,05 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{EDTA}$		$2,0 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{HNO}_3$		Celkový obsah
	AVG	RSD	AVG	RSD	AVG	RSD	
MI-094	12	11,8	29	12,2	75	7,1	1800
NZ-053	7	16,5	15	8,9	96	9,2	2500
ZH-071	ND	–	9	7,8	71	5,0	1800
HN-070	ND	–	ND	–	112	6,3	3400
LOD	1,4		2,2		15,5		–

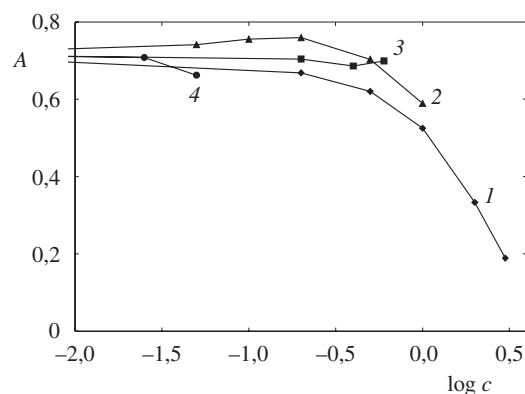


Obr. 1. Percentuálny podiel selénu stanoveného v extraktoch pôd z celkového obsahu Se v pôde; extrakčné činidlá: ■ 0,43 M- CH_3COOH , ■ 0,05 M-EDTA, ■ 0,1 M- KH_2PO_4 , ■ 0,1 M- $\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{K}_2\text{HPO}_4$, ■ 1 M- KH_2PO_4 , □ 2 M- HNO_3

pri teplote 20°C a neskôr 15 min odstreduje na centrifúge pri $3000 \text{ ot}\cdot\text{min}^{-1}$. Nakoniec sa extrakt prefiltruje cez filtračný papier do PE nádobiek a uskladní sa do stanovenia v chladničke⁹.

Redukčná predúprava vzoriek

Do vzduchotesnej PE nádobiek bolo napipetované 5 ml vzorky, 2 ml štand. prídavku roztoku selénu(0; 7 alebo $14 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1} \text{Se}^{4+}$) a 5 ml konc. kys. chlorovodíkovej. Následne boli nádoby vložené do sušiarne vyhriatej na 95°C na 30 min, ochladené v studenej vode a meranie sa uskutočnilo v ten istý deň.



Obr. 2. Vplyv extrakčného činidla a jeho koncentrácie na absorpčný signál selénu. (8 ng Se/ml činidla) 1 – HNO_3 , 2 – KH_2PO_4 , 3 – CH_3COOH , 4 – EDTA

Výsledky a diskusia

Šesť extrakčných postupov bolo aplikovaných na štyri vzorky pôd so známym obsahom celkového selénu. Boli robené dve paralelné extrakcie pre každú vzorku a extrakčný postup. Všetky roztoky získané po extrakciách boli analyzované technikou FI HG AAS. Dosiahnuté výsledky vyhodnotené metódou štandardných prídavkov sú zhrnuté v tabuľke II.

Z výsledkov je možné určiť silu jednotlivých vyluhovadiel, ktorá klesá v poradí $2 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{HNO}_3 > 1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{KH}_2\text{PO}_4 > 0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{K}_2\text{HPO}_4 > 0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{KH}_2\text{PO}_4 > 0,05 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{EDTA}$, $\text{pH } 7 > 0,43 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{CH}_3\text{COOH}$. Podiel vyextrahovaného Se $0,43 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{CH}_3\text{COOH}$ je veľmi malý, z čoho možno usúdiť, že toto činidlo nie je schopné z pôdy uvoľniť najmä vymeniteľný selén. Preto $0,43 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{CH}_3\text{COOH}$, ktorá býva často používaná pri stanovení bioprístupnosti ťaž-

kých kovov, má pri stanovení uvoľnitelného Se malý význam. Najviac selénu z pôd extrahuje 2 mol.l⁻¹ HNO₃, avšak množstvo selénu stanoveného extrakciou s týmto činidlom závisí priamo úmerne na celkovom obsahu Se v pôdach. Preto je tiež nevhodné na stanovenie biopristupnosti Se v pôde. Výsledky stanovenia Se použitím zostávajúcých štyroch extrakčných činidiel medzi sebou lineárne korelujú a teoreticky sú všetky štyri vhodnými činidlami. Niektoré štúdie však ukazujú, že kyslá povaha činidiel 0,1 mol.l⁻¹ KH₂PO₄ a 1 mol.l⁻¹ KH₂PO₄ môže spôsobiť vyluhovanie selénu špecificky naviazaného na niektoré amorfné zložky pôd ako napr. oxid-hydroxidy železa¹⁰. Výsledky analýzy však túto teóriu potvrdzujú iba v prípade 1 mol.l⁻¹ KH₂PO₄. Aj cez malú početnosť dát sa ako najvhodnejšie extrakčné činidlo na stanovenie množstva biopristupného selénu javí 0,1 mol.l⁻¹ KH₂PO₄ + K₂HPO₄, pretože ide o tlmivý roztok s neutrálnym pH, čím sú potlačené nežiaduce reakcie činidla s pôdou, ktoré vedú k vyluhovaniu nebiopristupných foriem selénu.

Percentuálny podiel selénu stanoveného v extraktoch pôd z celkového obsahu Se v pôde ukazuje obr. 1. O všetkých štyroch pôdach môžeme povedať, že podiel uvoľnitelného selénu v nich je veľmi nízky. Tento jav súvisí s kyslým a neutrálnym pH slovenských pôd, pri ktorom sa Se vyskytuje prevažne v nižších oxidačných stavoch, čím sa stáva pre rastliny neprístupným (až 42 % slovenských pôd má kyslú reakciu; 38 % neutrálnu a iba 20 % má zásaditú reakciu¹¹).

K interferenciám pri stanovení Se v pôdach technikou HG AAS môže dochádzať vo všetkých štyroch fázach stanovenia: príprava vzorky: rozklad vzorky → generovanie hydridu → atomizácia hydridu → detekcia. Z týchto rušivých vplyvov sa najviac prejavili interferencie pri generovaní hydridu spôsobené prítomnosťou vyššej koncentrácie niektorých ťažkých kovov (Cu, Al, Bi ...) a vplyvom použitého extrakčného činidla. Ako vidieť na obr. 2 výraznejší vplyv na absorpčný signál selénu majú iba HNO₃ od koncentrácie 0,2 mol.l⁻¹ a KH₂PO₄ od koncentrácie 0,5 mol.l⁻¹. Tieto rušivé vplyvy sa však dali ľahko eliminovať zriedením vzorky a použitím metódy štandardných prídavkov.

Správnosť stanovenia selénu vo výluhoch by bolo možné overiť iba použitím inej metódy stanovenia, pretože v komerčnej ponuke neexistuje certifikovaný referenčný materiál pre extrahovateľné obsahy selénu v pôdach. Detekčné limity stanovenia Se v pôdach sú uvedené v tabuľke II.

Záver

Sledovaním množstva uvoľneného selénu z pôd jednotlivými extrakčnými činidlami je možné určiť silu jednotlivých vyluhovadiel, ktorá klesá v poradí 2 mol.l⁻¹ HNO₃ > 1 mol.l⁻¹ KH₂PO₄ > 0,1 mol.l⁻¹ KH₂PO₄ + K₂HPO₄ > 0,1 mol.l⁻¹ KH₂PO₄ > 0,05 mol.l⁻¹ EDTA, pH 7 > 0,43 mol.l⁻¹ CH₃COOH. Ako najvhodnejšie extrakčné činidlo na stanovenie množstva biopristupného selénu sa javí 0,1 mol.l⁻¹ KH₂PO₄ + K₂HPO₄.

Obsah uvoľnitelného Se v sledovaných vzorkách pôd bol veľmi nízky, čo má súvislosť s kyslým a neutrálnym pH slovenských pôd. Uvedený fakt je aj príčinou nízkeho obsahu Se v našich potravinách, čo má za následok nízku koncentráciu selénu v krvnom sére slovenského obyvateľstva, ktoré je tým vo zvýšenej miere postihované nádorovými a kardiovaskulárnymi ochoreniami.

Práca bola vypracovaná v rámci grantu VEGA č. 1/6266/99. Za dodanie pôdnych vzoriek ďakujeme RNDr. P. Šefčíkovi z VÚPOP, Bratislava, SR.

LITERATÚRA

1. Kadrabová J., Maďarič A.: *Vyziva Zdravie* 3, 50 (1997).
2. Merian E.: *Metals and Their Compounds in the Environment. Selenium*. VCH, Weinheim 1991.
3. Chao T. T., Sanzolone R. F.: *Soil Sci. Soc. Am. J.* 53, 385 (1989).
4. Sharmasarkar S., Vance G.: *Soil Sci.* 26, 43 (1995).
5. Martens D. A., Suarez D. L.: *Environ. Sci. Technol.* 31, 133 (1997).
6. Farkašová I., Žemberyová M.: *Chem. Listy* 93, 633 (1999).
7. Boruvka L., Kozák J., Křišťouková S.: *Chem. Listy* 91, 868 (1997).
8. Ure A., Quevauviller P., Muntau H., Griepink B.: *BCR Information EUR 14763 EN*. CEC, Brussels 1993.
9. Kozák J.: *Zpráva katedry pedologie*. VŠZ, Praha 1990.
10. Lipton D. S.: *Dissertation*. University of California, Davis 1991.
11. Fecenko J.: *51. Zjazd chemických spoločností, Nitra, 6.–9. septembra 1999*, zborník príspevkov, M-P1.
12. Čurlík J., Šefčík P.: *Geochemický atlas SR časť V. – Pôdy*. VÚPOP, Bratislava 1999.

D. Bajčan^a, M. Žemberyová^b, J. Klimek^c, and D. Rúriková^b (^aInstitute of Chemistry, ^bDepartment of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Comenius University, ^cResearch Institute of Chemical Technology, Bratislava, Slovak Republic): **Determination of Bioavailable Selenium in Soils Using Atomic Absorption Spectrometry**

Bioavailable Se was determined by AAS after extraction from soil with various extractants. Six extraction agents were tested for the determination of plant-available selenium. The Se extractability from soils decreased in the order: 2 mol.l⁻¹ HNO₃ > 1 mol.l⁻¹ KH₂PO₄ > 0.1 mol.l⁻¹ KH₂PO₄ + K₂HPO₄ > 0.1 mol.l⁻¹ KH₂PO₄ > 0.05 mol.l⁻¹ EDTA (pH 7) > 0.43 mol.l⁻¹ CH₃COOH. The 0.1 mol.l⁻¹ KH₂PO₄ + K₂HPO₄ (pH 7) seemed to be the most suitable. The amount of the bioavailable Se in soils was very low (max. 2.5 %) due to acid and neutral pH of the soils.

OPTIMALIZACE FOTOMETRICKÉ METODY STANOVENÍ JODU V POTRAVINÁCH

JANA RUDOLFOVÁ^a, LADISLAV ČURDA^a
a RICHARD KOPLÍK^b

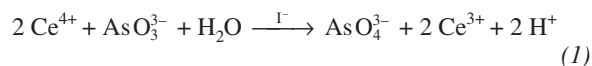
^aÚstav technologie mléka a tuků, ^bÚstav chemie a analýzy potravin, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, e-mail: jana.rudolfova@vscht.cz

Došlo dne 2.VII.2001

Klíčová slova: jod, spektrofotometrie, mléko, Sandellova-Kolthoffova reakce

Úvod

Problematika stanovení jodu v biologickém materiálu je aktuální již od 50. let, kdy se začaly řešit problémy jodového deficitu fortifikací kuchyňské soli jodidem draselným a v popředí zájmu bylo zjištění obsahu jodu vázaného na bílkoviny v krevním séru¹. V té době již byla známa metoda založená na Sandellově-Kolthoffově reakci (I), která využívá k nepřímému stanovení katalyticky účinného jodidu spektrofotometrické měření poklesu intenzity žlutého zbarvení v důsledku koncentračního úbytku ceričitých iontů.



Tento princip stanovení se v různých modifikacích používá dodnes. Běžnější jsou postupy, u nichž se reakce po určité době ukončí přidáním činidla, které zredukuje dosud nezreagované ceričité ionty a vyvolá spektrofotometricky měřitelné zbarvení. Nejčastěji se používá brucin² (vznikají načervenalé chinoidní formy) nebo železnatá sůl a následně thiokyanatan³ (vzniká červený komplex $[\text{Fe}(\text{SCN})_n]^{3-n}$).

Vlastnímu stanovení jodu v biologických materiálech musí předcházet mineralizace. V případě mineralizace na suché cestě s použitím alkalických činidel byly testovány možnosti použití hydrogenuhličitanu sodného¹, hydroxidu draselného⁴⁻⁶, uhličitanu sodného spolu se síranem zinečnatým³ a síranu zinečnatého spolu s hydroxidem draselným a několika krystalky chlorečnanu draselného². Z různých způsobů mineralizace kyselinami byly používány rozklady chromsírovou směsí¹, směsí kyseliny chloristé, sírové a dusičné^{4,7} či manganistanem draselným v kyselém prostředí¹. V České republice byl optimalizován postup podle Bednáře² s alkalickou mineralizací a použitím brucinu k ukončení katalyzované reakce⁸. Z důvodu eliminace jedovatého brucinu byl na našem pracovišti optimalizován postup podle Tušla³, který používá k ukončení reakce železnatou sůl v kombinaci s thiokyanatanem, a stanovení předchází kyselá mineralizace podle Wiechena a Kocka⁷. Mineralizace kyselinami je méně riziková z hlediska kontaminace než mineralizace alkalická. Je však náročnější z hlediska bezpečnosti práce, protože se využívá prudkého oxidačního účinku kyseliny chloristé. Během kyselá mineralizace

dojde k oxidaci všech forem jodu ve vzorku na kyselinu jodičnou. Prvním krokem stanovení je pak redukce kyseliny jodičné na jodid, který má katalytickou aktivitu v reakci mezi arsenitanovými a ceričitými ionty. K tomu se využije část přítomných arsenitanových iontů; proto musí být v reakční směsi v nadbytku.

Experimentální část

Materiál a metody

Kyseliny o čistotě p.p. (HClO_4 – 70 %, H_2SO_4 – 95–97 %, HNO_3 – 65 %), používané k rozkladu vzorků, byly zakoupeny u firmy Analytika (ČR), $(\text{NH}_4)_4\text{Ce}(\text{SO}_4)_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (99,0 %) a As_2O_3 (99,5 %) o čistotě p.a. u firmy Merck (Německo). Ostatní chemikálie byly o čistotě p.a. (Penta Chrudim, ČR). Pro přípravu roztoků a mytí nádobí byla používána demineralizovaná voda. Před začátkem práce bylo nejprve všechno skleněné nádobí dekontaminováno⁷ vymytím 10% roztokem peroxidisíranu amonného v 96% kyselině sírové, důkladně opláchnuto demineralizovanou vodou a vysušeno v horkovzdušné sušárně při 110 °C.

Pro ověřování správnosti optimalizované metody byl použit standardní referenční materiál sušeného odstředěného mléka CRM 063R (Community Bureau of Reference, Belgie) s certifikovaným obsahem jodu $810 \pm 50 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny. Pro zjišťování vlivu mineralizace na spolehlivost výsledků bylo použito obnovené (10 hm.%) odstředěné mléko (JČM, závod Strakonice, ČR).

Do tenkostěnných zkumavek o objemu 40 ml se naváží vzorky (0,2 g v přepočtu na sušinu), v případě kalibrační řady se napipetují 2 ml standardního roztoku KIO_3 (koncentrace jodu 25–250 $\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$), resp. 2 ml vody v případě slepého pokusu, a přidá se 9 ml mineralizační směsi kyselin (72 obj.% H_2SO_4 , 17 obj.% HClO_4 a 11 obj.% HNO_3). Do zkumavek se vloží nálevky o průměru 5 cm. Rozklad probíhá v bloku Digestion System 20 – Digester 1015 (Tecator, Švédsko) a je řízen programovaným nárůstem teploty během 3,5 h až na 200 °C s prodlevou 4 h při této teplotě (Autostep Controller 1012, Tecator, Švédsko). Po vychladnutí a probublání mineralizátů dusíkem se roztoky kvantitativně převedou do 25 ml odměrných baněk a doplní vodou po značku.

Ke stanovení se odebírají 2 ml zředěného mineralizátu, přidá se směsný arsenitanový roztok [75 ml vody + 50 ml 20 % NaCl + 25 ml roztoku arsenitanu ($0,495 \text{ g As}_2\text{O}_3 + 0,4 \text{ g NaOH}$ ve 100 ml roztoku) + 250 ml roztoku H_2SO_4 o koncentraci 4 $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$] a po důkladném promíchání se reakce zahájí přidáním roztoku ceričité soli (1,34 g $(\text{NH}_4)_4\text{Ce}(\text{SO}_4)_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ve 100 ml roztoku). Zkumavka se vloží do vodní lázně o dané teplotě a průběh reakce je zastaven po určité době přidáním roztoku železnaté soli (1,5 g $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ ve 100 ml roztoku) a roztoku thiokyanatanu (4 g KSCN ve 100 ml roztoku). Dávkované objemy roztoku železnaté soli a thiokyanatanu byly v jednotlivých variantách provedení vždy shodné s objemem ceričité soli. Po 5 min se proměří absorbance v 1 cm kyvetě při 460 nm proti vodě (UV-VIS spektrofotometr Carry 50, Varian, Austrálie). Ze závislosti rozdílů logaritmů absorbancí slepého vzorku a kalibračního roztoku na hmotnosti jodu v reakční směsi se sestrojí lineární kalibrační křivka, ze které se odečte obsah jodu ve vzorcích.

Způsoby optimalizace metody

Průběh Sandellovy-Kolthoffovy reakce ovlivňuje molární poměr arsenitanových a ceričitých iontů, teplota a doba reakce. U každého z těchto parametrů byly zvoleny čtyři hodnoty a jejich vliv byl otestován šestnácti pokusy vybranými na základě Taguchiho plánování experimentů⁹ (tab. I a II).

Vybrané podmínky byly vyzkoušeny na kalibrační závislosti o rozsahu 0–20 ng I v reakční směsi. Správnost výsledků optimalizovaného postupu byla ověřována stanovením obsahu jodu v referenčním materiálu sušeného odstředěného mléka BCR: CRM 063R a byl proveden test výtěžnosti se dvěma standardními přísadkami jodičnanu draselného. Na závěr byl zjišťován vliv vlastního stanovení a vliv mineralizace na výsledek s použitím analýzy rozptýlu^{10,11} (počítačový program QM STAT, verze 1.1). Vzorek obnoveného odstředěného mléka byl desetkrát zmineralizován a v každém mineralizátu byl třikrát stanoven obsah jodu.

Výsledky a diskuse

Z výsledků šestnácti experimentů vyplývá, že správná volba reakčního poměru AsO_3^{3-} a Ce^{4+} je pro stanovení zásad-

Tabulka I

Volba testovaných hodnot parametrů

Parametr	1	2	3	4
A čas [min]	30	40	50	60
B teplota [°C]	30	40	50	60
C objem roztoku AsO_3^{3-} [ml]	3	4	5	6
D objem roztoku Ce^{4+} [ml]	0,25	0,3	0,4	0,5

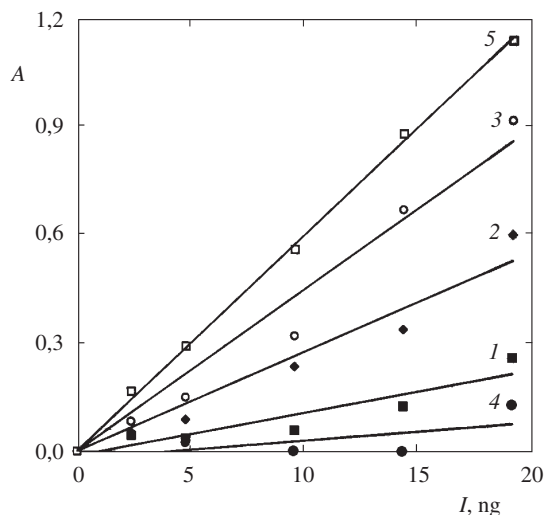
Tabulka II

Zvolené kombinace parametrů

Experiment	A	B	C	D	Molární poměr $\text{AsO}_3^{3-} : \text{Ce}^{4+}$
1	1	1	1	1	1,8:1
2	1	2	2	2	2,0:1
3	1	3	3	3	1,8:1
4	1	4	4	4	1,8:1
5	2	1	2	3	1,5:1
6	2	2	1	4	0,9:1
7	2	3	4	1	3,5:1
8	2	4	3	2	2,5:1
9	3	1	4	2	3,0:1
10	3	2	3	1	3,0:1
11	3	3	2	4	1,2:1
12	3	4	1	3	1,1:1
13	4	1	3	4	1,5:1
14	4	2	4	3	2,2:1
15	4	3	1	2	1,5:1
16	4	4	2	1	2,4:1

ní. V případě experimentů č. 7, 8, 9, 10, 14 a 16 je reakční poměr velmi vysoký (větší než 2:1) a za daných podmínek (vyšší teplota, delší čas, případně kombinace obou faktorů) dojde i u roztoků s velmi nízkým obsahem jodu ke zreagování velkého množství přítomných ceričitých iontů a naměřené absorbance se pro celou kalibrační řadu pohybují ve velmi úzkém intervalu nízkých hodnot. Získané kalibrace i po logaritmické transformaci vykazují značné odchylky od linearity a citlivost měření je malá. Tento případ je v obr. 1 zastoupen křivkou 1. Nevýhodný reakční poměr byl prokázán také u experimentů č. 1, 2, 3 a 4, protože průběh kalibrační křivky i přes celkem mírné podmínky stanovení (s výjimkou pokusu č. 4) není optimální (obr. 1, křivka 2). V případě exp. č. 11 byla získána vysoká směrnice kalibrační křivky, ale absorbance slepého pokusu i kalibračních roztoků jsou příliš vysoké, a proto více zatížené chybou měření přístroje (obr. 1, křivka 3). Kalibrační závislost získaná experimentem č. 6 (obr. 1, křivka 4) názorně dokazuje nadbytek ceričitých iontů oproti arsenitanovým (1:0,9). Vhodný reakční poměr byl zvolen u experimentů č. 5, 12, 13 a 15; pro zvolený rozsah kalibrační řady je nejvhodnější použití podmínek exp. 12 nebo 15, protože v těchto případech bylo dosaženo vysoké směrnice kalibrační křivky. Jako ideální (obr. 1, křivka 5) byly nakonec zvoleny podmínky exp. č. 15 (3 ml AsO_3^{3-} , 0,3 ml Ce^{4+} , 60 min, 50 °C), protože je lépe pracovat s menším reakčním objemem (z praktického i ekonomického hlediska) po delší dobu při nižší teplotě. Za těchto optimalizovaných podmínek se absorbance roztoků pohybovaly v rozmezí 0,14 (20 ng jodu) až 1,95 (slepý pokus). Později bylo ověřeno, že při potřebě rozšíření kalibrační řady na 0–40 ng jodu v reakční směsi stačí snížit teplotu na 30 °C a dobu reakce na 35 min při zachování optimálního dávkování roztoků. Podobného efektu by bylo dosaženo s využitím podmínek experimentu č. 5 nebo 13, ale spotřeba chemikálií by byla vyšší.

V referenčním materiálu byl deklarován obsah jodu v sušině 810±50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Průměrná hodnota celkem deseti stanovení obsahu jodu činila 698 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ vzorku o sušině 95,2 %,



Obr. 1. Příklady naměřených kalibračních závislostí rozdílů logaritmů absorbancí slepého vzorku a kalibračního roztoku (A) na hmotnosti jodu (I) v reakční směsi (1 – exp. č. 9, 2 – exp. č. 3, 3 – exp. č. 11, 4 – exp. č. 6, 5 – exp. č. 15)

Tabulka III
Stanovení jodu v referenčním materiálu a test výtěžnosti

Vzorek CRM	Přídavek KIO ₃ [ng I]	Jod [μg.kg ⁻¹]	SD (n = 10) [μg.kg ⁻¹]	Výtěžnost (n = 5) [%]
1	0	698	50	–
2	60	956	–	107±14
3	180	1514	–	105±10

Tabulka IV
Výsledky stanovení jodu (μg.kg⁻¹) ve vzorcích obnoveného mléka I–X

Měření	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	214	199	186	186	177	167	138	186	175	146
2	206	188	200	183	170	191	150	174	187	165
3	220	199	208	184	194	159	170	176	181	156

Tabulka V
Výsledky analýzy rozptylu

Rozptyl	Počet stupňů volnosti	F	F _{krit.}
Meziskupinový	1025	9	9,542
Reziduální	107,5	20	–
Celkový	392,4	29	–

čili 733 μg.kg⁻¹ sušiny. Tato hodnota odpovídá 90 % střední hodnoty deklarovaného obsahu a leží těsně pod dolní hranicí intervalu spolehlivosti certifikované hodnoty. Tento rozdíl je patrně důsledkem ztrát jodu při mineralizaci organické hmoty. Sloučeniny jodu obsažené ve vzorku mléka se při rozkladu z malé části přeměňují na těkavé formy, které unikají z reakční směsi. Výtěžnost jodu byla testována na hladině 60 a 180 ng jodu přidaného ve formě KIO₃ k navážce CRM. Každý mineralizát vzorku byl analyzován pětkrát. Stanovené hodnoty se pohybovaly v intervalech 107±14 %, resp. 105±10 % předpokládané hodnoty. Výsledky stanovení obsahu jodu v referenčním materiálu včetně výsledků testu výtěžnosti shrnuje tab. III.

Stanovením obsahu jodu v deseti mineralizátech vzorku obnoveného mléka byl zjišťován vliv dílčích kroků analytického postupu na výsledek (viz tab. IV). Analýzou rozptylu (tab. V) bylo prokázáno, že mineralizace je statisticky významným faktorem ovlivňujícím výsledek stanovení (rozptyl mezi skupinami je významný). Naproti tomu paralelní stano-

vení jodu ve stejném mineralizátu nepřispívá k celkovému rozptylu dat významnou měrou.

Závěr

Testováním různých reakčních podmínek spektrofotometrické metody stanovení jodu založené na Sandellově-Kolthoffově reakci byl zjištěn optimální molární poměr arsenitanu a ceričitých iontů (3:2). Kombinaci teploty a doby reakce je možné přizpůsobit podle požadovaného rozsahu kalibrační řady. Správnost výsledků optimalizovaného postupu byla ověřována analýzou certifikovaného referenčního materiálu a stanovením výtěžnosti jodu přidaného ve formě jodičnanu draselného. Bylo zjištěno, že statisticky významný podíl na celkovém rozptylu stanovení má mineralizace.

LITERATURA

- Zak B., Willard H. H., Myers G. B., Boyle A. J.: *Anal. Chem.* 24, 1345 (1952).
- Bednář J., Röhling S., Vohnout S.: *Cesk. Farm.* 13, 203 (1964).
- Tušl J.: *Chem. Listy* 70, 533 (1976).
- Ayiannidis A. K., Voulgaropoulos A. N.: *Analyst* 113, 153 (1988).
- Malmstadt H. V., Hadjiioannou T. P.: *Anal. Chem.* 35, 2157 (1963).
- Gökmen I. G., Dağ h G.: *Analyst* 120, 2005 (1995).
- Wiechen A., Kock B.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 319, 569 (1984).
- Fiedlerová V.: *Czech J. Food Sci.* 16, 163 (1998).
- Montgomery D. C.: *Taguchi's Contributions to Experimental Design and Quality Engineering. Design and Analysis of Experiments*. Wiley, New York 1991.
- Eckschlager K., Horsák I., Kodejš Z.: *Vyhodnocování analytických výsledků a metod*. SNTL, Praha 1980.
- Balatka S.: *Inženýrská statistika pro ekonomy*. VŠCHT, Praha 2000.

J. Rudolfová^a, L. Čurda^a, and R. Koplík^b (^aDepartment of Dairy and Fat Technology, ^bDepartment of Food Chemistry and Analysis, Institute of Chemical Technology, Prague):
Optimization of Photometric Method for Iodine Determination in Foods

Determination of trace amounts of iodine in food samples was performed by a spectrophotometric method based on the Sandell-Kolthoff reaction catalysed by iodide ions. Samples were decomposed by wet digestion using a HNO₃-HClO₄-H₂SO₄ mixture. The amounts of reagents as well as reaction temperature and time were optimised. The accuracy of the method was tested by examination of the iodine recovery and by analysis of a certified reference material. It was found by the analysis of variance that mineralization had a statistically more significant effect on the assay accuracy than the catalytic reaction itself.

**POUŽITÍ SEKVENČNÍHO EXTRAČNÍHO
POSTUPU PRO POSOUZENÍ VLIVU PŘÍDAVKU
UPRAVENÉHO ČISTÍRENSKÉHO KALU
NA MOBILITU Cd A Zn V PŮDĚ**

**JIŘINA SZÁKOVÁ, PAVEL TLUSTOŠ, JIŘÍ BALÍK,
DANIELA PAVLÍKOVÁ a MILUŠE BALÍKOVÁ**

Katedra agrochemie a výživy rostlin, Česká zemědělská univerzita, 165 21 Praha 6, e-mail: SZAKOVA@AF.CZU.CZ

Došlo dne 29.VII.2001

Klíčová slova: Cd, Zn, půda, sekvenční extrakce, frakcionace, upravené čistírenské kalu

Úvod

Při studiu pohybu esenciálních i toxických prvků v půdě a jejich transportu z půdy do rostlin získávají stále více na významu metody následné (sekvenční) extrakce vzorků půdy, kdy je možno přesně definovanými postupy stanovit podíly prvků vázané na jednotlivé složky půdy, a tím i odhadnout mobilitu či mobilizovatelnost těchto prvků. Již dříve jsme publikovali podrobné hodnocení zastoupení As, Cd a Zn v jednotlivých frakcích půdy¹ dle modifikované metodiky SM&T EUR 14763 EN (cit.²). Zjistili jsme, že popsaná metoda může velmi dobře charakterizovat rozdělení prvků do jednotlivých půdních frakcí, které je ovlivněno celým komplexem půdních vlastností, jako je půdní reakce, obsah organické hmoty či půdní sorpční kapacita. Všechny tyto vlastnosti může ovlivnit přídavek čistírenského kalu, který je v zemědělské praxi zpravidla využíván jako zdroj živin a organických látek. Zemědělské využití kalu je současně nejlevnějším a nejsnadnějším způsobem likvidace tohoto typu odpadu.

Vzhledem k relativně vysokým obsahům toxických prvků a organických polutantů v těchto kalcích je před aplikací do půdy ověřována jejich předúprava, která má imobilizovat či rozložit přítomné toxické látky. Podobně jako je tomu v půdě, i v čistírenském kalu je stabilita vazeb toxických prvků ovlivněna řadou faktorů, mezi kterými je třeba zdůraznit původ kalu, pH, oxidačně-redukční podmínky, vlhkost a rozkladné procesy během předúpravy kalu³⁻⁵. V naší práci jsme studovali možnost podchytit pomocí sekvenčního extrakčního postupu změny mobility kadmia a zinku vyvolané přídavkem upravených čistírenských kalů a předpovědět jejich přístupnost rostlinám.

Materiál a metody

V nádobovém experimentu byly testovány tři půdy rozdílných fyzikálně-chemických vlastností (tab. I). Čistírenský kal byl nejprve inkubován po dobu 8 měsíců s přídavkem aditiva podle následujícího schématu:

1. za přístupu vzduchu,
 - A) bez přídavku aditiva,
 - B) s přídavkem vápence v dávce 18 % celkové sušiny kalu,

Tabulka I
Základní charakteristiky použitých půd a upraveného čistírenského kalu

Půda	Půdní typ	pH	C _{ox} ^a [%]	KVK ^b [mval.kg ⁻¹]	Σ [mg.kg ⁻¹] Cd Zn	
Suchdol	černozem	7,2	2,3	255	0,403	70,9
Červený Újezd	hnědozem	6,0	1,5	158	0,194	47,2
Přerov n. L.	fluvizem	5,0	1,0	89	0,228	17,1

Čistírenský kal	Varianta	pH	C _{ox} ^a [%]	N [%]	Σ [mg.kg ⁻¹] Cd Zn	
Aerobní	A	5,3	10	2,0	7,44	1890
	B	6,6	9	1,5	7,21	2623
	C	5,4	8	1,7	5,26	1287
	D	3,9	20	2,0	5,91	1296
Anaerobní	A	7,8	22	4,5	6,71	1399
	B	7,3	16	2,9	5,91	1379
	C	7,8	20	3,2	5,53	1125
	D	5,2	25	2,0	5,57	1182

^a C_{ox} – oxidovatelný uhlík, ^b KVK – kationtová výměnná kapacita

2. v uzavřené nádobě za anaerobních podmínek, rovněž ve variantách A–D jako u aerobní inkubace.

Takto upravený kal byl dle jednotlivých variant přidán do nádob v množství ekvivalentním dávce 20 tun sušiny kalu na hektar. Celkové obsahy prvků v čistírenském kalu po inkubaci s přídavkem aditiv a základní fyzikálně-chemické vlastnosti tohoto kalu shrnuje rovněž tabulka I. V pokusných nádobách byl pěstován špenát a oves. Po sklizni byly odebrány vzorky půd, které byly vysušeny na vzduchu, přesáty a extrahovány metodou postupné extrakce dle metodiky SM&T EUR 14763 EN (cit.²), která byla modifikována zařazením extrakce půdy demineralizovanou vodou jako prvního stupně¹. Schéma extrakčního postupu bylo tedy následující: 0,5 g vzorku půdy bylo naváženo do centrifugačních zkumavek a extrahováno postupně následujícími médii:

 1. vodorozpustná frakce: H₂O v poměru 1:10,
 2. výměnná frakce: 0,11 mol.l⁻¹ CH₃COOH v poměru 1:40,
 3. frakce vázaná na oxidy: 0,1 mol.l⁻¹ NH₂OH.HCl v poměru 1:40, pH 2,
 4. frakce organicky vázaná: 8,8 mol.l⁻¹ H₂O₂ v poměru 1:40, po odpaření do sucha na teflonové horké desce při teplotě 80 °C následuje 1 mol.l⁻¹ CH₃COONH₄ v poměru 1:100, pH 5,
 5. reziduální frakce: vypočtena jako rozdíl celkového obsahu prvku a součtu předchozích frakcí.

Reakční směs byla po skončení každého stupně centrifugována (Hettich Universal 30 RF) při 3000 otáčkách po dobu 10 min, supernatant byl slit a uložen při 6 °C až do doby měření.

Tabulka II

Zastoupení kadmia a zinku v jednotlivých půdních frakcích (% z celkového obsahu prvku) podle pokusných variant – průměrná hodnota představuje aritmetický průměr všech tří pokusných půd

Varianta	Arit. průměr		Minimum		Maximum		
	Cd	Zn	Cd	Zn	Cd	Zn	
Vodorozpustná							
Kontrola	0,314	0,442	0,091	0,073	0,698	1,15	
Aerobní	A	0,389	0,329	0,092	0,085	0,923	0,739
	B	0,278	0,190	0,076	0,117	0,639	0,311
	C	0,421	0,352	0,048	0,165	0,926	0,653
	D	0,443	0,373	0,103	0,056	0,890	0,965
Anaerobní	A	0,470	0,361	0,179	0,030	0,886	0,928
	B	0,242	0,174	0,049	0,048	0,492	0,401
	C	0,544	0,395	0,174	0,076	0,941	1,03
	D	0,349	0,334	0,083	0,062	0,603	0,838
Výměnná							
Kontrola	24,7	9,12	15,6	1,93	33,6	22,5	
Aerobní	A	19,7	11,7	15,1	2,78	22,8	26,2
	B	18,9	10,1	14,1	2,75	22,6	22,7
	C	18,4	11,9	12,8	3,39	23,5	27,2
	D	21,8	12,0	15,2	3,14	25,3	27,8
Anaerobní	A	21,4	15,5	12,9	4,75	26,7	35,0
	B	20,0	14,6	12,6	4,68	25,0	31,8
	C	21,8	14,7	12,5	4,41	27,4	32,0
	D	22,4	12,5	13,4	3,66	32,2	27,4
Vázaná na oxidy Mn a Fe							
Kontrola	49,9	15,4	33,9	10,8	63,2	19,4	
Aerobní	A	40,8	16,0	27,0	13,8	52,3	18,3
	B	40,1	14,5	31,4	11,0	51,4	17,0
	C	42,5	16,7	28,5	11,7	56,9	20,8
	D	43,3	17,2	26,2	14,2	53,6	19,9
Anaerobní	A	44,0	20,5	26,8	15,8	54,8	23,0
	B	43,3	19,4	30,4	14,8	50,6	21,9
	C	41,1	19,7	28,7	16,0	48,7	22,5
	D	41,8	17,2	26,0	13,7	51,3	19,5

Celkový obsah prvků v půdách byl stanoven v mineralizátech získaných předchozím dvoustupňovým rozkladem s přítomností HF v jeho mokré fázi podle následujícího postupu: 0,5 g vzorku půdy bylo spáleno na suché cestě ve směsi superoxidačních plynů v přístroji APION při teplotě 400 °C po dobu 10 hodin. Pevný zbytek po suchém rozkladu byl rozložen ve směsi HF konc. + HNO₃ konc. (1 + 2) na teflonové horké desce v teflonových kádinkách při 150 °C. Odparek byl rozpuštěn ve zředěné lučavce královské a uložen v kalibrovaných zkumavkách při teplotě místnosti až do doby měření¹.

Obsah prvků v připravených roztocích byl stanoven metodou atomové absorpční spektrometrie na přístrojích Varian SpectraAA-300 a Varian SpectraAA-400. Pro stanovení Cd pak byl použit grafitový bezplamenový atomizátor GTA-96 a Zn

Tabulka II – pokračování

Varianta	Arit. průměr		Minimum		Maximum		
	Cd	Zn	Cd	Zn	Cd	Zn	
Organicky vázaná							
Kontrola	9,62	22,7	4,00	13,1	13,8	36,7	
Aerobní	A	8,96	14,1	4,70	12,0	11,5	15,5
	B	8,57	14,8	4,74	13,5	11,1	17,1
	C	6,90	19,0	2,39	16,4	9,55	20,4
	D	6,86	19,1	2,15	14,8	10,4	22,8
Anaerobní	A	9,07	17,9	4,46	15,1	13,7	20,1
	B	10,9	18,6	6,53	16,6	14,3	21,7
	C	10,5	19,1	5,05	16,3	15,5	24,4
	D	8,23	17,1	4,79	13,9	10,8	20,1
Reziduální							
Kontrola	17,5	65,3	8,5	62,9	22,5	68,0	
Aerobní	A	29,9	58,3	21,8	46,5	43,4	65,7
	B	27,7	53,3	10,4	31,0	49,3	68,0
	C	25,4	50,0	8,84	28,5	45,9	62,5
	D	26,6	47,3	9,92	21,2	43,3	64,6
Anaerobní	A	25,2	48,5	12,5	28,4	40,1	60,0
	B	27,3	47,7	17,6	20,0	37,9	65,9
	C	30,6	36,9	27,6	20,2	36,5	58,4
	D	23,9	49,3	10,0	18,5	34,2	9,0

byl atomizován v plameni acetylen–vzduch. Pro vyhodnocení signálu bylo použito metody standardního přídatku. Pro kontrolu správnosti výsledků byl v případě celkového obsahu prvků v půdě využit certifikovaný referenční materiál RM 7001 Light Sandy Soil s následujícím výsledkem: v materiálu obsahujícím 0,32 mg Cd.kg⁻¹ a 108 mg Zn.kg⁻¹ bylo nalezeno 0,31 mg Cd.kg⁻¹ a 101 mg Zn.kg⁻¹.

Výsledky a diskuse

Přídatek upraveného čistírenského kalu se odrazil jak na celkovém obsahu sledovaných prvků v půdě, tak i na úrovni fyzikálně-chemických parametrů testovaných půd. V průběhu inkubace došlo k významným přeměnám ve složení organické hmoty kalu, což vedlo i ke změně celkové koncentrace prvků v sušině kalu (tabulka I). Přídatek aditiv se vzhledem k nízkému obsahu prvků v těchto materiálech projevil nařazením koncentrace kadmia a zinku v čistírenském kalu po jejich aplikaci. Proces dlouhodobé předúpravy kalu však ovlivňuje zastoupení prvků v jednotlivých frakcích kalu a také mobilitu těchto prvků. Důležitou roli hraje přítomnost vzduchu během kultivace kalů, kdy aerobní kultivace vede k vyšší mobilitě prvků ve srovnání s anaerobní variantou⁶. Redistribuce prvků do nejmobilnějších frakcí, tj. vodorozpustné a výměnné, je způsobena rozkladem organické hmoty kalu, případně snížením pH u varianty s přídatkem rašeliny a slámy. V anaerobních podmínkách pak sledované prvky mohou tvořit pevné vazby se sloučeninami síry, což vede k jejich imobilizaci⁷.

Aplikace upraveného kalu do půdy vedla k významné změně celkových obsahů sledovaných prvků. Obsah Cd se v závislosti na celkovém obsahu kadmia v půdě zvýšil o 10–25 %, obsah zinku pak u některých variant až o 40 %. Rozdílné pH jednotlivých variant upraveného kalu ovlivnilo významně pH půdy pouze na kyselé fluvizemi, kde se po přidávku vyvápňeného kalu zvýšilo pH až na hodnotu 5,4. Vysoký obsah organické hmoty v čistírenském kalu zvýšil i celkový obsah oxidovatelného uhlíku v půdě po aplikaci upravených kalů o 6 % u černozemě a až o 15 % u fluvizemě.

Zastoupení kadmia a zinku v základních frakcích půdy podle jednotlivých variant upraveného kalu sumarizuje tabulka II. Je zřejmé, že došlo k posunu v podílech prvků v jednotlivých frakcích, a to v závislosti na způsobu úpravy aplikovaného čistírenského kalu. Chování prvků v jednotlivých půdních frakcích lze hodnotit následovně:

V případě vodorozpustné, tedy nejmobilnější a rostlinám bezprostředně přístupné frakce, se jednoznačně projeví rozdíl v mobilitě obou prvků v aplikovaném kalu, způsobené zejména rozdílným pH tohoto materiálu. Bylo zaznamenáno snížení mobility prvků po aplikaci vyvápňeného kalu (varianta B) a naopak její zvýšení po aplikaci kompostovaného kalu s nízkým pH. Velmi těsná byla závislost mobility prvků na půdním pH zejména na kyselé fluvizemi, kde dosáhl lineární korelační koeficient hodnoty $-0,71$ u Cd a $-0,81$ u Zn ($\alpha = 0,05$) a koncentrace obou prvků byly v této frakci ze sledovaných půd nejvyšší. Vliv kompostovaného čistírenského kalu na zvýšení mobility zinku v souvislosti s nízkým pH publikovali i Planquart a spol.⁸, kteří v tomto případě upozorňují i na vyšší příjem zinku pokusnými rostlinami. Ve srovnání s kontrolou však relativní mobilita zinku ve všech pokusných variantách poklesla, jak konstatovali i Shuman a spol.⁹ v případě kompostu připraveného zpracováním biologického odpadu.

U frakce výměnné, stejně jako u dalších frakcí, se vliv rozdílného pH jednotlivých pokusných variant neprojevil, vystupuje však do popředí vliv obsahu organické hmoty přidávaného kalu. Z tohoto důvodu je také možno zaznamenat rozdíl v extrahovatelnosti prvků z půdy obohacené kalem inkubovaným za aerobních a anaerobních podmínek. V případě kadmia došlo k poklesu obsahu tohoto prvku ve výměnné frakci ve srovnání s kontrolou, přičemž menší pokles se projevil u variant s anaerobně inkubovaným kalem. U anaerobních variant dochází v půdě k rozkladu organické hmoty kalu, který u aerobních variant proběhl již v průběhu předúpravy tohoto kalu. Dochází tím i k uvolnění části prvku, která byla dosud pevně vázána v matici kalu. U zinku, jehož koncentrace v čistírenském kalu jsou ve srovnání s půdou velmi vysoké, se přítomnost upraveného kalu projevila vždy zvýšením koncentrace zinku ve výměnné frakci. Korelace obsahu zinku s obsahem oxidovatelného uhlíku v půdě byla vysoce významná a dosahovala dle jednotlivých půd hodnot $r = 0,62$ až $0,77$.

Podíl prvků vázaných na oxidy manganu a železa lze u obou prvků hodnotit zcela shodně jako u výměnné frakce. Korelace obsahu zinku v této frakci s obsahem oxidovatelného uhlíku se pohybovala v rozmezí $r = 0,53$ až $0,83$; obsah kadmia v této frakci s obsahem organické hmoty významně nekoreloval. Chování podílů prvků vázaných v organické hmotě půdy rovněž souvisí s již diskutovaným procesem rozkladu organické hmoty, který vedl k poklesu obsahu zinku v této frakci. V případě kadmia byl tento pokles patrný pouze u variant s přidávkem aerobně inkubovaných kalů, anaerobní varianty

naznačují existenci pevných vazeb kadmia v dosud nerozložené organické hmotě kalu. Teprve dlouhodobé sledování může dát odpověď na otázku, zda může dojít k mobilizaci takto vázaného kadmia. Reziduální podíl prvků pak doplňuje distribuci prvků do mobilních a potenciálně mobilizovatelných frakcí. Přítomnost kalu vedla ke zvýšení pevnosti vazeb kadmia, a tím i k jeho imobilizaci bez ohledu na způsob předúpravy kalu. Rozklad organické hmoty kalu vedl k významnému snížení reziduálního podílu zinku zejména u variant po aplikaci anaerobně inkubovaného kalu. Redistribuce zinku z reziduální frakce do výměnné a organické frakce stejně jako do frakce vázané na oxidy manganu a železa byla popsána po aplikaci průmyslových čistírenských kalů či kompostu s vysokým obsahem zinku¹⁰, zatímco přidavek organické hmoty s nízkým obsahem tohoto prvku vedl naopak k přesunu části výměnně vázaného zinku do méně mobilních frakcí^{9,10}.

Závěr

Lze konstatovat, že přidavek upraveného čistírenského kalu do půdy vede k významným změnám v distribuci kadmia a zinku v základních půdních frakcích v závislosti na způsobu předúpravy tohoto kalu. Zatímco rozdělení kadmia vykazovalo trend ke snížení mobility tohoto prvku a zvýšení jeho reziduálního podílu, zvýšil se potenciálně mobilizovatelný podíl zinku na úkor podílu reziduálního. Vodorozpustný (rostlinou bezprostředně přijímatelný) podíl prvků byl ovlivněn zejména hodnotou pH půdy i přidávaného kalu. Potenciálně mobilizovatelné frakce prvků pak ovlivňuje množství a složení organické hmoty přidávaného kalu. Je zřejmé, že metoda sekvenční extrakce půd může dobře zachytit změny v distribuci prvků, ke kterým dochází při významné změně fyzikálně-chemických vlastností půdy, a dovoluje tak odhadnout chování toxických prvků v půdě.

Problematika byly řešena v rámci interního výzkumného projektu ČZU číslo 204/10/44901/0 a výzkumného záměru MŠMT 412 100 005.

LITERATURA

1. Száková J., Tlustoš P., Balík J., Pavlíková D., Vaněk V.: Fresenius' J. Anal. Chem. 363, 594 (1999).
2. Ure A., Quevauviller P., Muntau H., Griepink B.: *BCR information EUR 14763 EN*. Community Bureau of Science, Brussels 1993.
3. Mullins G. L., Sommers L. E.: J. Environ. Qual. 15, 382 (1986).
4. Canet R., Pomares F., Tarazona F.: Soil Use Manage. 13, 117 (1997).
5. Balík J., Tlustoš P., Száková J., Blahník R., Kaewrahn S.: Rostl. Vyr. 45, 511 (1999).
6. Kaewrahn S.: *Doctoral thesis*. Czech University of Agriculture, Prague 1999.
7. Bingham F. T., Page A. L., Mahler R. H., Ganje T. J.: Soil Sci. Soc. Am. J. 40, 715 (1976).
8. Planquart P., Bonin G., Prone A., Massiani C.: Sci. Total. Environ. 241, 161 (1999).
9. Shuman L. M., Dudka S., Das K.: Water, Air, Soil Pollut. 128, 1 (2001).

10. Shuman L. M.: J. Environ. Qual. 28, 1442 (1999).

J. Száková, P. Tlustoš, J. Balík, D. Pavlíková, and M. Balíková (*Department of Agrochemistry and Plant Nutrition, Czech University of Agriculture, Prague*): **Application of Sequential Extraction Procedure to Evaluation of Influence of Sewage Sludge Amendment on Cd and Zn Mobility in Soil**

The modified SM&T EUR 14763 EN sequential extraction procedure was applied to evaluation of water-soluble, exchangeable, Fe/Mn oxide-bound, organic-bound, and residual cadmium and zinc in three soils differing in physicochemical properties. The soil parameters were altered by an addition of

sewage sludge pre-incubated under aerobic and/or anaerobic conditions. The addition led to significant changes in Cd and Zn separation into the main fractions. While cadmium distribution tended to lower mobility accompanied by increasing residual fraction, potentially mobilizable zinc fractions increased with decreasing residual fraction. The water-soluble (plant-available) fraction correlated with pH of the soil and/or sewage sludge added to the soil. The amount and composition of the soil and the organic matter in sludge were the dominant factors affecting the distribution of potentially mobilizable fractions of elements. The sequential extraction procedure can reasonably elucidate the changes in element distribution in soil fractions by changing physicochemical properties of the soil.

Fakulta chemická Vysokého učení technického v Brně

uspořádá

pod záštitou rektora Vysokého učení technického v Brně,

Prof. RNDr. Ing. Jana Vrbky, DrSc.

mezinárodní konferenci

2nd Meeting on Chemistry&Life

Konference se uskuteční v prostorách Vysokého učení technického v Brně, ve dnech **10.–11. září 2002**, při příležitosti 10. výročí znovuoživení fakulty. Organizační a vědecký výbor konference předpokládá plenární zasedání v prvním dni a v druhém dni jednání v sekcích:

- Fyzikální a spotřební chemie
- Potravinářská chemie a biotechnologie
- Chemie a technologie materiálů
- Chemie a technologie ochrany životního prostředí

Informace průběžně na <http://www.fch.vutbr.cz/fakultni.htm>

OBSAH

ÚVODNÍK	581
Brassinosteroidy	583
L. Kohout	
Sledování a vyhodnocování půdních vlastností a vstupů látek do půdy	584
M. Sářka	
Stav zatížení zemědělských půd perzistentními organickými polutanty	590
R. Vácha, E. Podlešáková, J. Němeček a O. Poláček	
REFERÁTY	
Jakon (<i>Smallanthus sonchifolius</i>) a maka (<i>Lepidium meyenii</i>), tradiční andské plodiny jako nové funkční potraviny na evropském trhu	594
K. Valentová, J. Frček a J. Ulrichová	
Resveratrol	602
J. Šmidrkal, V. Filip, K. Melzoch, I. Hanzlíková, D. Buckiová a B. Kříska	
Čokoláda a zdraví	610
J. Čopíková	
Smažení potravin z pohledu chemika	616
J. Pokorný a L. Parkányiová	
Sladkovodní kontaminované sedimenty jako chemické časované bomby	621
J. Fajtl, R. Tichý a R. Ledvina	
Transgenní rostliny – potenciální nástroj pro dekontaminaci polutantů životního prostředí	630
K. Frančová, T. Macek, K. Demnerová a M. Macková	
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY	
Stanovení obsahu biopřístupného selénu v půdách metodou AAS	638
D. Bajčan, M. Žemberyová, J. Klimek a D. Růriková	
Optimalizace fotometrické metody stanovení jodu v potravinách	642
J. Rudolfová, L. Čurda a R. Koplík	
Použití sekvenčního extrakčního postupu pro posouzení vlivu přídatku upraveného čistírenského kalu na mobilitu Cd a Zn v půdě	645
J. Száková, P. Tlustoš, J. Balík, D. Pavlíková a M. Balíková	

CONTENTS

EDITORIAL	581
Brassinosteroids	583
L. Kohout	
Examination and Evaluation of Soil Properties and Substances Intake into Soil	584
M. Sářka	
The State of Loading of Agricultural Soil with Persistent Organic Pollutants	590
R. Vácha, E. Podlešáková, J. Němeček, and O. Poláček	
REVIEW ARTICLES	
Yacon (<i>Smallanthus sonchifolius</i>) and Maca (<i>Lepidium meyenii</i>), Traditional Andean Crops as New Functional Foods on the European Market	594
K. Valentová, J. Frček, and J. Ulrichová	
Resveratrol	602
J. Šmidrkal, V. Filip, K. Melzoch, I. Hanzlíková, D. Buckiová, and B. Kříska	
Chocolate and Health	610
J. Čopíková	
Food Frying from the View of a Chemist	616
J. Pokorný and L. Parkányiová	
Contaminated Freshwater Sediments as Chemical Delayed-Action Bombs	621
J. Fajtl, R. Tichý, and R. Ledvina	
Transgenic Plants – A Potential Tool for Decontamination of Environmental Pollutants	630
K. Frančová, T. Macek, K. Demnerová, and M. Macková	
LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS	
Determination of Bioavailable Selenium in Soils Using Atomic Absorption Spectrometry	638
D. Bajčan, M. Žemberyová, J. Klimek, and D. Růriková	
Optimization of Photometric Method for Iodine Determination in Foods	642
J. Rudolfová, L. Čurda, and R. Koplík	
Application of Sequential Extraction Procedure to Evaluation of Influence of Sewage Sludge Amendment on Cd and Zn Mobility in Soil	645
J. Száková, P. Tlustoš, J. Balík, D. Pavlíková, and M. Balíková	

**BULLETIN ČESKÝCH CHEMICKÝCH
SPOLEČNOSTÍ****BULLETIN OF THE CZECH CHEMICAL
SOCIETIES**

Novela názvosloví organické chemie – přehled změn	650	Czech Organic Nomenclature Changes	950
Výuka sacharidů a její didaktická úskalí	665	Didactical Problems of Teaching of Saccharides	665
Ze života chemických společností	670	From the Chemical Societies	670
Chemik na studiích, cestách	672	Traveling Chemist	672
Z vědeckých, odborných a zahraničních společností	674	From the Learned, Professional and Foreign Societies	674
Evropský koutek	675	European Column	675
Osobní zprávy	677	Personal News	677
Střípky a klípky o světových chemících	680	Biographical Sketches of World Chemists	680
Technické zajímavosti a služby	681	Technical Information, Tips and Services	681
Knihy, literatura, informace a web	683	Books, Literature, Informations and WEB	683
Zajímavosti ze světa vědy a techniky	684	News from Science and Technology	684
Aprílový klub	686	Club of Jokes	686
Akce v ČR a v zahraničí	687	Meetings Calendar	687
Zprávy z redakce	688	News from Editorial Office	688
Bulletin představuje	688	Bulletin Presents	688
Volná místa	689	Jobs	689
Výročí a jubilea	689	Anniversaries and Jubilees	689

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 95 (2001), čís./no. 10 • **LISTY CHEMICKÉ**, roč./vol. 125, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 111 • ČASOPIS ASOCIACE ČESKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ • Bulletin roč./vol. 32 • Vydává Česká společnost chemická ve spolupráci s Ministerstvem zemědělství ČR, Vysokou školou chemicko-technologickou v Praze, s Českou společností průmyslové chemie a Ústavem organické chemie a biochemie AV ČR, za finanční podpory Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy (projekt LP 0001), Nadace Český literární fond a kolektivních členů ČSCH • *Published by the Czech Chemical Society* • VEDOUCÍ REDAKTOR/EDITOR-IN-CHIEF: B. Kratochvíl • REDAKTOŘI/EDITORS: J. Barek, Z. Bělohav, P. Drašar, J. Gut, J. Hetflejš, P. Chuchvalec, J. Podešva, P. Rauch, J. Volke, M. Bláhová (Bulletin), M. Ferles (Bulletin), B. Valter (Bulletin), I. Valterová (Bulletin), R. Liboska (webové stránky), P. Zámstný (webové stránky) • ZAHRANIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTOŘI/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA), L. Opletal (Hradec Králové), J. Soušek (Olomouc), J. Šibor (Brno) • VÝKONNÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: C. Jirátová • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: E. Borsig, M. Černá, L. Červený, E. Dibuszová, M. Drdák, J. Hanika, J. Churáček, Č. Jech, I. Kadlecová, J. Káš, J. Koubek, T. Míšek, J. Pacák, V. Pačes, O. Paleta, I. Stibor, V. Šimánek, R. Zahradník • ADRESA PRO ZASÍLÁNÍ PŘÍSPĚVKŮ, INZERCI, INFORMACE O PŘEDPLATNÉM, OBJEDNÁVKY A PRODEJ JEDNOTLIVÝCH ČÍSEL/MANUSCRIPTS IN CZECH, SLOVAK OR ENGLISH CAN BE SENT TO: Chemické listy, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel./phone +420(2) 2108 2370, fax +420(2) 2222 0184, e-mail: chem.listy@csvts.cz, IČO 444715 • SOUHRNÝ NA INTERNETU/PREPUBLISHED ABSTRACTS ON URL: http://staff.vscht.cz/chem_listy/index.html • TISK: PORS 052, Školní náměstí 11, 537 33 Chrudim; SAZBA: SF SOFT, Jinonická 329, 158 00 Praha 5 • Copyright © 2001 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 100 Kč, roční předplatné 2001 (12 čísel) 1034 Kč. Předplatné ve Slovenské republice 2310 Kč. Pro členy ČSCH je sleva 50 %, pro studenty 70 % • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG; Annual subscription for 2001 (12 issues) DEM 440 • Podávání novinových zásilek povoleno ČP s.p. OZ VČ, č.j. PP/I 5333/95 • 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 7/97 na straně 492, nebo budou zaslány na požádání, zkratky odb. časopisů viz 10/97 str. 911 • Instructions for authors will be sent on request. • Chemické listy obsahující Bulletin jsou zaslány 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. SAZBA BULLETINU: B. Valter, SEKRETARIÁT ČSCH: Novotného lávka 5, tel., fax +420(2) 2222 0184, e-mail: mblahova@csvts.cz