

Chemické

listy

2



100 let polarografie

Grafické abstrakty v Chemických listech

Ukládání vyhořelého jaderného paliva

Hormon mládí

Nanočástice stříbra ve vodárenství

Ročník 116

CHLSAC 116 (2) 097 - 144 (2022) ISSN 0009 - 2770 <http://www.chemicke-listy.cz>



ÚOCHB ^{AV}_{ČR}
IOCB PRAGUE

Open call:

DIRECTOR

Institute of Organic Chemistry and Biochemistry of the Czech Academy of Sciences / IOCB Prague



The Board of the Institute of Organic Chemistry and Biochemistry of the Czech Academy of Sciences is seeking applications for the position of Director of the Institute.

Requirements

PhD or equivalent doctoral degree in the area of chemistry, biology, or medicine; senior level scientific experience; proven management skills

Dates

Deadline for applications: **February 28, 2022**, 3pm CET

On-site interviews or videoconferences with preselected candidates: **April 7, 2022** from 10am CET

Expected starting date: **June 1, 2022** (for a term of five years with possible re-election for another five-year term)

Full information

For more details about the position, necessary qualifications and other requirements, application submission, and contacts, please visit www.uochb.cz/en/director2022.

Institute of Organic Chemistry and Biochemistry of the CAS
Flemingovo nám. 2, 160 00 Praha 6, Czech Republic

Contact: Pavel Jungwirth (Chairman of IOCB Board)
pavel.jungwirth@uochb.cas.cz

Change is here

ChemPubSoc Europe has transformed into Chemistry Europe.



Our mission is

to evaluate, publish, disseminate and amplify the scientific excellence of chemistry researchers from around the globe in high-quality publications.

We represent 16 European chemical societies and support their members at every stage of their careers as they strive to solve the challenges that impact humankind. We value integrity, openness, diversity, cooperation and freedom of thought.

Chemistry Europe

- 16 chemical societies
- From 15 European countries
- Who co-own 16 scholarly journals
- And represent over 75,000 chemists
- With 109 Fellows recognized for excellence in chemistry
- 13 million downloads in 2019
- 9,800 articles published in 2019

www.chemistry-europe.org

Batteries & Supercaps

ChemBioChem

ChemCatChem

ChemElectroChem

ChemistryOpen

Chemistry-Methods

ChemistrySelect

ChemMedChem

ChemPhotoChem

ChemPhysChem

ChemPlusChem

ChemSusChem

ChemSystemsChem



European Chemical
Societies Publishing

published in partnership with

WILEY-VCH

21
16.–19. 5. 2022
Milovy, hotel Devět Skal

Interdisciplinary meeting of young life scientists

16–19/05/2022 Hotel Devět skal, Milovy



GENERAL INFORMATION

Interdisciplinary Meeting of Young Life Scientists is an annual prize awarding competition organized and powered in collaboration with a general and long-term commercial partner, Life Science division of Merck. The aim of the Meeting is to promote young Life Scientists in their early careers, to establish a platform for sharing their ideas, outstanding results and important innovations and, last but not least, to allow them for networking with other researchers. English is the official language of the Meeting.



TERMS OF PARTICIPATION & REGISTRATION

Registration is opened for young researchers and students under the age of 35 (year of birth 1987 and younger), who are employed in the Czech Republic or in the Slovak Republic. All interested are obliged to register and send the abstract of their presentation together with a list of publications before January, 31st 2022.

We kindly ask you to indicate during your registration for which section you would like to apply and whether you prefer to present a lecture or a poster. In 2022, the competition will be divided into the following sections (both for oral lectures and posters):

- **Bioscience & Molecular Biology** (proteomics, genomics, synthetic biology etc.)
- **Materials Science for Life** (biomaterials, polymer chemistry, biosensors etc.)
- **Advanced Analytics in Life Science** (separation techniques, mass spectrometry etc.)
- **Organic Chemistry & Catalysis** (synthesis, medicinal chemistry etc.)

Registration form & abstract guidelines are available on-line at the Meeting web page www.interdisciplinarymeeting.cz



TIMELINE & PRACTICAL INFORMATION

Deadline for registration & abstract submission is January, 31st 2022.

Expert committee will then select the best applications in all sections before March, 15th 2022.

All selected finalists will be invited to participate at the final competition during the Meeting itself which will take place at Hotel Devět Skal in Milovy on May, 16–19th 2022. The authors of the winning oral lectures in each section and also authors of the best posters will be awarded a prize at the end of the Meeting. Meals and accommodation for all invited participants are pre-paid by the Organizers of the Meeting, the participants themselves are to cover their expenses for beverages during the event and transportation to the event venue.

ORGANIZERS & CONTACTS

General partner – Life Science division of Merck spol. s r. o.
Czech Chemical Society
Czech Society for Biochemistry and Molecular Biology
Technology Transfer Office of the Institute of Organic Chemistry and Biochemistry AS CR, v.v.i.



IOCB Tech



WEB

www.interdisciplinarymeeting.cz

REGISTRATION

interdisciplinarymeeting@cbttravel.cz

QUESTIONS

fusek@uochb.cas.cz,
zuzana.antalova@merckgroup.com
or peckova@cbttravel.cz (organizing secretariat)

MERCK

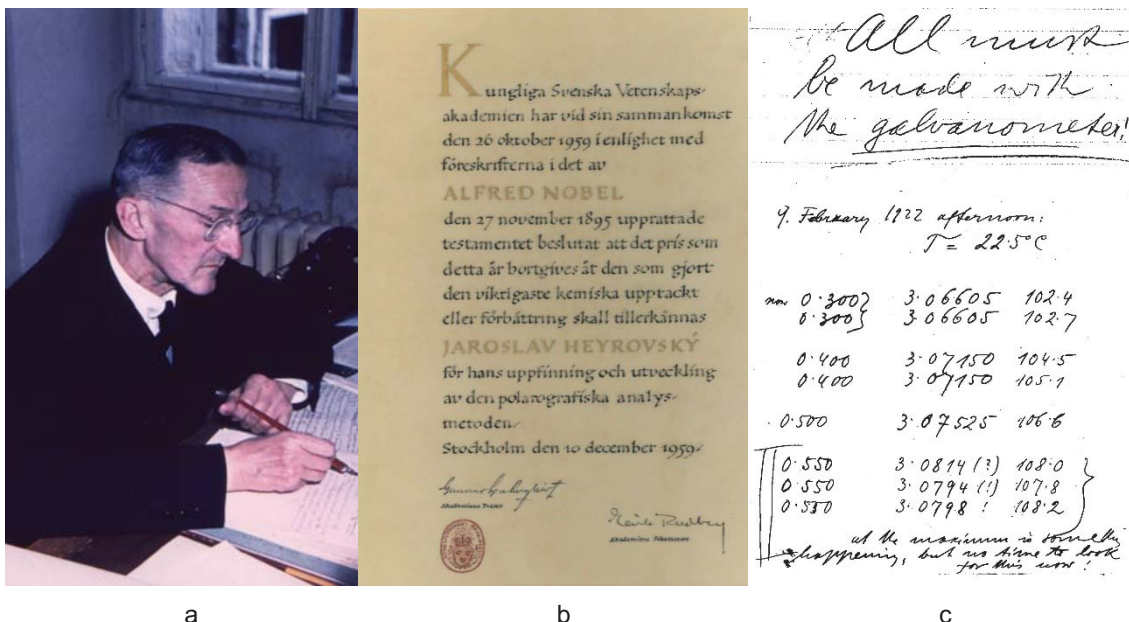
100 let od zrodu polarografie

Na začátku roku 1922 se prof. Heyrovský (obr. 1a) intenzivně zabýval studiem jevů souvisejících s chováním kovové rtuti při styku s vodným roztokem elektrolytu. Studoval povrchové napětí rtuti pomocí měření doby kapky rtuti odkapávající ze skleněné kapiláry. Při těchto experimentech dostal 9. února 1922 nápad měřit elektrický proud procházející rtuť kapající do vodného roztoku příslušného elektrolytu, který lze považovat za okamžik zrodu této úžasné analytické metody. To je patrné z obr. 1c, kopie stránky laboratorního deníku prof. Heyrovského, který si ho od svých studií v Anglii psal anglicky. A za tuto sice jednoduchou, ale geniální myšlenku získal o mnoho let později Nobelovu cenu za polarografickou metodu analýzy (viz obr. 1b). Možná by bylo dobré v dnešní scientometrii poznamenané době připomenout, že tato myšlenka byla publikována v českém jazyce v časopise *Chemické listy* (viz *Chem. Listy* 16 (6), 256 (1922)), který je v dnešní době považován za časopis ve 4. kvartilu, a že i někteří vedoucí pracovníci silně nedoporučují publikování v časopisech tohoto kvartilu. A rovněž připomenout, že to není zdaleka jediná myšlenka, za kterou byla později udělena Nobelova cena, která si teprve později našla cestu i do prestižnějších časopisů. A uvědomit si, že prof. Heyrovský v této době zřejmě nemusel trávit stovky hodin nad nejrůznějšími administrativou, neb již druhý den svůj nápad experimentálně

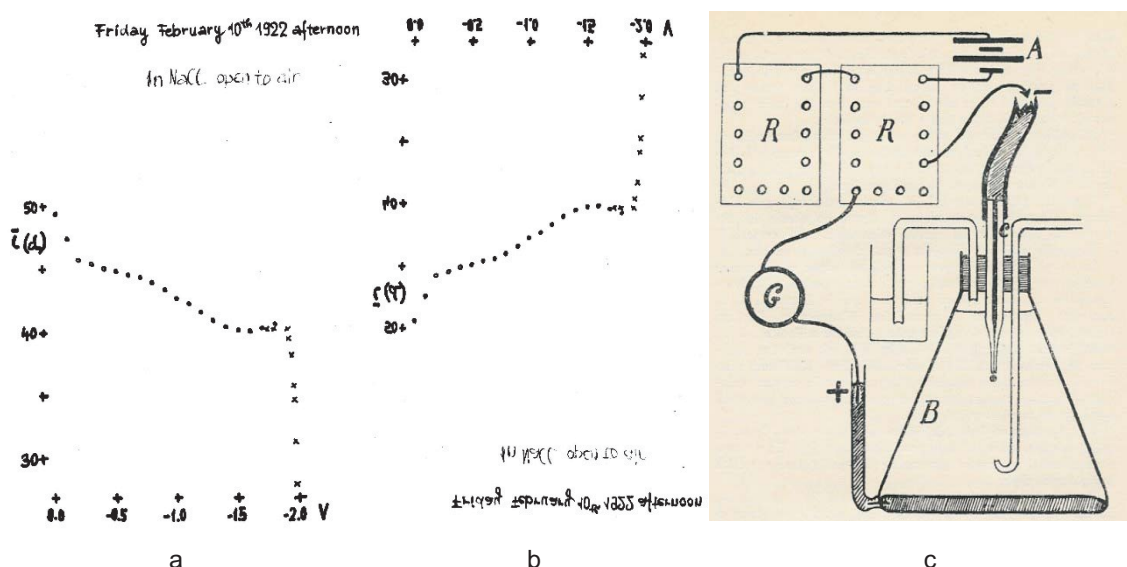
realizoval (viz kopie stránky z jeho laboratorního deníku na obr. 2).

Za zmínku stojí i skutečnost, že od pionýrských měření do jejich zveřejnění v našem časopise uplynulo pár měsíců v době, kdy se vše muselo dělat ručně a k využití počítačů ve vydávání časopisů bylo tehdy stejně daleko jako k Nobelově ceně za polarografii. A i autorovi těchto řádek, jako počítačově závislému analytickému chemikovi, vrtá hlavou, proč je v době úžasných počítačů doba mezi zasláním publikace do tisku a jejím vydáním delší, než byla před sto lety.

Přestože dnes je polarografie mnohými považována za překonanou a v současnosti již nepoužitelnou analytickou metodu, stále ročně vycházejí desítky prací obsahující magické klíčové slovo „polarography“, které mají stovky citací. Cílem tohoto textu není hodnotit význam polarografie či odvozených metod využívajících kapalnou rtuť jako ideální elektrodový materiál s mimořádně širokým katodickým potenciálovým oknem, s atomicky hladkým a mimořádně snadno obnovitelným povrchem a s nepřeborným množstvím za sto let shromážděných informací o mechanismu příslušných elektrodových reakcí. Rád bych tento úvodník považoval spíše za výzvu zkušeným českým elektroanalytickým chemikům, aby přesně toto hodnocení provedli a publikovali na stránkách *Chemických listů* jako



Obr. 1. (a) Prof. Jaroslav Heyrovský ve své laboratoři na Chemickém ústavu Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy na Albertově, (b) kopie diplomu Nobelovy ceny za polarografickou metodu analýzy, (c) kopie stránky laboratorního deníku prof. Heyrovského ze dne 9. února 1922, kdy prof. Heyrovského napadlo měřit proud procházející rtuť kapající do roztoku



Obr. 2. (a) První, rukou prof. Heyrovského nakreslená závislost proudu protékajícího rtuťovou kapající elektrodou na vloženém napětí, (b) stejná závislost transformovaná podle dnešních zvyklostí, na které již vidíme dvě vlny redukce kyslíku a proud od povídané redukce draselných iontů, (c) první schéma zachycující princip zcela nové elektroanalytické metody, která se díky neúnavné propagaci prof. Heyrovského časem rozšířila po celém světě

připomínky cti, které se našemu časopisu dostalo publikováním první práce o polarografii.

Je na místě připomenout, že k obrovskému rozšíření polarografie po celém světě přispěla obdivuhodná propagační práce prof. Heyrovského, jeho snaha vysvětlovat její princip co nejjednodušeji a co nejpochopitelněji. Ta by i dnes mohla být vzorem některým přednášejícím, kteří se naopak snaží auditorium přesvědčit, že to, co dělají, je tak výjimečné a složité, že tomu nikdo jiný nemůže porozumět. A připomenout, že polarografie byla první analytickou metodou s grafickým záznamem měřené závislosti, že na ní byly poprvé praktikovány dnes v celé analytické chemii běžně používané principy vyhodnocování získaných závislostí, kde z polohy určitého signálu usuzujeme na kvalitu a z jeho výšky na kvantitu sledované látky, a že rozhodujícím způsobem přispěla k dnes běžně používaným metodám kalibrační přímky a standardního přídatku. Snaha prof. Heyrovského o rychlé převedení poznatků z akademického světa do světa praxe by nám měla být vzorem i dnes. Naopak rozhodnutí patentového úřadu neudělit patent polarografu se zdůvodněním, že nelze očekávat žádné praktické využití, by mělo být určitou výstrahou některým dnešním

hodnotitelům, kteří často odmítnou nové věci jen proto, že jsou nové a není s nimi dostatek zkušeností. Ale i zde nám může být prof. Heyrovský vzorem: nenechat se otrávit a jít cestou, kterou nám ukazuje náš rozum a naše srdce. Ta nám totiž určitě přinese radost z poznání, i když nám pochopitelně nemusí přinést Nobelovu cenu.

A na závěr informace, že naše Odborná skupina analytické chemie České společnosti chemické i redakce časopisu *Chemické listy* chystají v této souvislosti ve spolupráci s Přírodovědeckou fakultou Univerzity Karlovy, Ústavem fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského AV ČR a firmou Metrohm ČR celou řadu akcí, o nichž budete informováni na internetových stránkách <http://www.chemicke-listy.cz/>, <https://osanal.csch.cz/> a <https://www.metrohm.com/cs-cz/>.

Jiří Barek
předseda výboru Odborné skupiny
analytické chemie ČSCH

- Barek J.: Chem. Listy 116, 97–98 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220097>

Pojďme tvořit grafické abstrakty

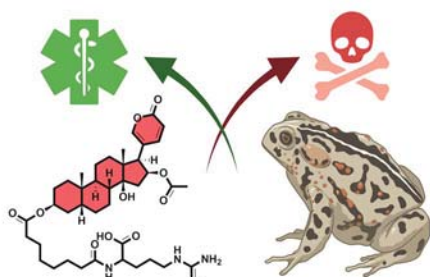
Vyhledávání vědeckých i referátových publikací je dnes realizováno prostřednictvím webových on-line databází. Vědci ke sdílení svých prací stále častěji využívají platformy sociálních médií (ResearchGate, Facebook, Twitter, LinkedIn atd.). I proto většina významných chemicky, biologicky a technologicky orientovaných vydavatelství doporučuje svým autorům, aby součástí jejich rukopisů byly grafické abstrakty (GA). GA představuje „miniaturní“ umělecké dílo, které má čtenářům na první pohled shrnout hlavní obsah článku vedoucí ke grafické iluminaci webových stránek vydavatele a k celkovému zlepšení viditelnosti příslušné publikace. Primárním cílem je upoutat pozornost publika a umožnit čtenářům, aby si z nepřehledného množství článků vybrali ten, který je pro ně potenciálně zajímavý. Obrázková upoutávka je navíc dokonale vhodným mediálním nástrojem pro sdílení prostřednictvím sociálních sítí.

Typickým způsobem vyobrazení GA jsou jednoduše zkomponované nejdůležitější výsledky (kondenzovaný obsah) prezentované v rukopisu do vysoce informativní grafické podoby. O účinnosti GA jakožto článkového atraktantu toho doposud příliš napsáno nebylo. Tato bibliometrická mezera ve výzkumu může být způsobena i obtížností získávání relevantních dat pro statistické vyhodnocení, možná i proto, že některá (možná i většina) vydavatelství



vyžadují GA jako esenciální součást rukopisů. Na druhou stranu, je také třeba si přiznat, že GA není vhodný pro všechny druhy článků.

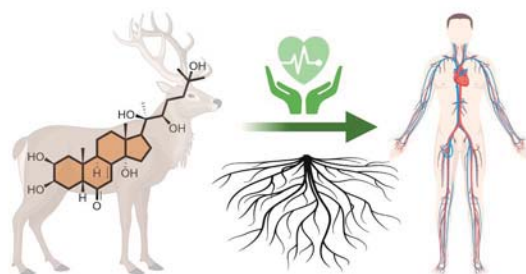
Hodnocení výkonnosti GA v časopise *Annals of Surgery* na sociálních sítích ukázalo, že „tweety“ s vizuálními abstrakty měly 7,7krát více zobrazení a 8,4krát více „retweetů“ ve srovnání s „tweety“, které obsahovaly pouze název článku¹. S principiálně podobnými závěry přišla recentní práce Hoffberga a spol.², tj. že grafické abstrakty zvyšují povědomí čtenářské obce o publikacích ve vědec-



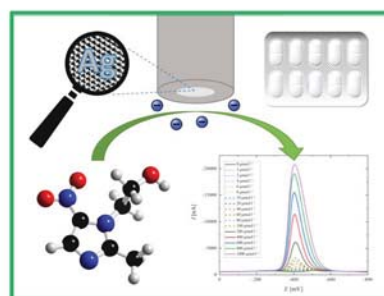
Chem. Listy 115, 363 (2021)



Chem. Listy 115, 458 (2021)



Chem. Listy 115, 595 (2021)



Chem. Listy 115, 669 (2021)

kých časopisech a že sdílení GA na platformě Twitter je účinným nástrojem pro šíření výzkumu mimo tradiční akademické výzkumné publikum.

Na druhou stranu, ve starší práci Pferschy-Wenzig a spol.³, hodnotící účinnost GA v časopise *Molecules*, se ukázalo, že články s GA vykazují nižší míru stahování. Závěrem byl vysloven předpoklad, že v rámci webových vyhledávání čtenáři úspěšněji třídí články, které si přečtou.

V rámci osvojování praktik tradičních vědecko-výzkumných vydavatelství se v redakci *Chemických listů* snažíme o postupné alterace směrem k současným trendům. Od doby, kdy redakce časopisu umožnila paralelně k česky psané verzi publikovat anglický překlad článků, se někteří autoři na tuto alternativu dobře adaptovali⁴. Za poslední období byly v roce 2019 publikovány dva^{5,6}, v roce 2020 čtyři⁷⁻¹⁰ a v roce 2021 již devět¹¹⁻¹⁹ anglických překladů článků, což statisticky znamená meziroční nárůst o víc než 100 %. Od září 2021 redakce *Chemických listů* nabízí autorům i možnost překladu jejich česky psaných rukopisů do angličtiny s využitím programu DeepL²⁰.

Současná snaha o další evoluci časopisu vyústila v možnost publikovat k nově zveřejňovaným článkům GA na webových stránkách *Chemických listů*. Současné požadavky na GA jsou následující: poměr stran 4:3 (šířka:výška), minimální rozlišení obrázku 300 dpi, ideální formát jpg. Texty v GA by měly být výhradně v českém jazyce. V případě dvoujazyčných článků potom i verze GA s anglickým překladem. Některé články z roku 2021 již mají GA na webu zveřejněný (viz výše)^{12,14,15,18} a jestli se tato praxe osvědčí v blízké budoucnosti, to je pouze na Vás, našich milých autorech.

Grafický materiál byl vytvořen v programu BioRender.

Michal Jurášek, Eva Benešová
a Vlastimil Vyskočil

LITERATURA

1. Stahl-Timmins W., Black J., Simpson P.: *Inf. Des. J.* 25, 101 (2019).
2. Hoffberg A. S., Huggins J., Cobb A., Forster J. E., Bahraini N.: *Front. Res. Metr. Anal.* 5, 564193 (2020).
3. Pferschy-Wenzig E-M., Pferschy U., Wang D., Mocan A., Atanasov A. G.: *Molecules* 21, 1247 (2016).
4. Vyskočil V.: *Chem. Listy* 114, 717 (2020).
5. Stránská D., Berka P., Doležal P.: *Chem. Listy* 113, 337 (2019).
6. Kaňka J. a 10 spoluautorů: *Chem. Listy* 113, 726 (2019).
7. Václavková J., Kouřilová P., Vrbková J., Holub D., Hajdúch M., Džubák P.: *Chem. Listy* 114, 470 (2020).
8. Elbert T.: *Chem. Listy* 114, 609 (2020).
9. Kodr D., Rumlová M., Zimmermann T., Džubák P., Drašar P., Jurášek M.: *Chem. Listy* 114, 658 (2020).
10. Czigle S., Barkociová M., Sovány T., Regdon Jr. G., Háznagy-Radnai E., Tóth J.: *Chem. Listy* 114, 680 (2020).
11. Přerovská T., Benešová E., Lipovová P.: *Chem. Listy* 115, 171 (2021).
12. Jurášek M., Opletal L., Kmoníčková E., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 363 (2021).
13. Palatinus L., Kratochvíl B.: *Chem. Listy* 115, 368 (2021).
14. Jurášek M., Opletal L., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 458 (2021).
15. Jurášek M., Opletal L., Harmatha J., Sláma K., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 595 (2021).
16. Huličková T., Karamonová L.: *Chem. Listy* 115, 583 (2021).
17. Šterbová J., Kočová P., Pekárek L., Selinger M., Ondruš J., Grubhoffer L., Štěrbá J.: *Chem. Listy* 115, 662 (2021).
18. Mráček O., Vyskočil V.: *Chem. Listy* 115, 669 (2021).
19. Chocholouš P., Polášek M., Kubáň P., Foret F.: *Chem. Listy* 115, 658 (2021).
20. Kratochvíl B., Bělohav Z.: *Chem. Listy* 115, 338 (2021).

● Jurášek M., Benešová E., Vyskočil V.: *Chem. Listy* 116, 99–100 (2022).

● <https://doi.org/10.54779/chl20220099>

NEUROHYPOFYZÁRNÍ PEPTIDY V LÉKAŘSTVÍ Z PRAŽSKÝCH A ŠVÉDSKÝCH LABORATOŘÍ. ČÁST II: DESMOPRESSIN, TERLIPRESSIN, CARBETOCIN – FARMAKOLOGIE A KLINICKÉ APLIKACE

VLADIMÍR PLISKA^a, ANTONÍN PAŘÍZEK^b,
MARTIN FLEGEL^{c*}

*dDAVP: 1-deamino-8-D-arginin vasopressin
(Desmopressin)*

^a Department of Biology, Eidgenössische Technische Hochschule (ETH), Wolfgang-Pauli-Strasse 27, CH-8093 Zürich, ^b Gynekologicko-porodnická klinika 1. lékařské fakulty UK a VFN v Praze, Perinatologické centrum, Apolinářská 18, 128 51 Praha 2, ^c Ústav chemie přírodních látek, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6
vladimir.pliska@biol.ethz.ch, parizek@porodnice.cz

Design tohoto analogu, jímž započala spolupráce ÚOCHB s Ferringem^{1,2}, vycházel ze starších známých faktů o vlivech vypuštění N-terminální aminoskupiny a D-enantiomerní substituci v pozici 8 na antidiuretickou a vasopressorickou aktivitu u peptidů vasopressinového typu. 1-Deamino-L-arginin-vasopressin (dAVP) popsali v již roce 1966 Huguenin a Boissonnas (SANDOZ S.A., Basel)³ a později (1974) Sawyer se spolupracovníky⁴; obě laboratoře našly shodné antidiuretické (1300 a 1390 IU/mg) a vasopressorické (370 IU/mg) aktivity^b proti původnímu L-arginin-vasopressinu, tedy podstatně zvýšený antidiuretický účinek při stejné vasopressorické aktivitě. Substituce D-argininem v poloze 8 arginin-vasopressinu vedla sice k mírnému snížení antidiuretické aktivity (z 332 na 257 IU/mg (cit.⁵), resp. 114 IU/mg (cit.⁶)), ale zároveň k podstatnému poklesu aktivity vasopressorické (mezi 1,1 a 4,1 IU/mg). Kombinace obou naznačovala, že by mohlo jít o zajímavý peptid pro substituční terapii neurogenní formy žíznivky^c (*diabetes insipidus*). Přesto, že kumulace strukturních modifikací v individuálních peptidech obvykle nevede k předpokládané kumulaci aktivit spojených s těmito modifikacemi, pověřil ředitel ÚOCHB František Šorm skupinu Milana Zaoralu, aby peptid s kombinací obou strukturních změn syntetizovala⁷. Výsledek byl více než překvapivý. Již v prvních antidiuretických testech provedených farmakologickou skupinou ÚOCHB vykazoval kombinovaný peptid ve srovnání s 8-L-arginin-vasopressinem (AVP) antidiuretickou aktivitu nejméně padesátinásobně vyšší, aktivitu vasopressorickou testovanou skupinou Ivana Krejčího z Výzkumného ústavu přírodních léčiv^d menší než 3 %. Standardní farmakologické testy antidiuretické aktivity nejsou při tak velkých rozdílech mezi standardem a testovaným peptidem jednoznačné

Došlo 12.10.21, přijato 1.11.21.

Klíčová slova: neurohypofyzární hormony, oxytocin, vasopressin, deamino-D-arginin vasopressin, DDAVP, Glypressin, Terlipressin, Ferring company, peptidová léčiva

• <https://doi.org/10.54779/chl20220101>

Výroba léčiv založená na dohodách ÚOCHB ČSAV – Ferring AB

Licenčními dohodami, zmíněnými v předcházejících sděleních^{1,2}, získala v průběhu 70. a 80. let od Ústavu organické chemie a biochemie Československé akademie věd (ÚOCHB ČSAV) švédská farmaceutická firma Ferring AB Malmö práva na výrobu řady analogů a na jejich distribuci na světovém trhu mimo státy sdružené v RVHP (zkratka pro Radu vzájemné hospodářské pomoci)^a. Tři z nich našly použití jako úspěšné léky.

* † 15. 7. 2021. Nekrolog dr. Flegela viz Drašar P.: Chem. Listy 115, 575 (2021).

^a Po likvidaci RVHP počátkem 90. let bylo toto omezení bezpředmětné a firma FERRING rozšířila činnost celosvětově.

^b Mezinárodní jednotka (IU) oxytocinu je nově definována jako uterotonická aktivita 1,68 µg mezinárodního standardu NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control); viz <https://www.nibsc.org/documents/ifu/76-575.pdf>. V přepočtu: 1 mg (nového) mezinárodního standardu (ca. 10⁻⁶ mol oxytocinu) = 595 IU. Starý standard (lyofilizované hovězí neurohypofýzy) uváděl 500 IU.

^c U klinických případů popsanych v tehdejších sděleních šlo velmi pravděpodobně o neurogenní (centrální) formu žíznivky (*d.i. centralis*). U její renální formy (*d.i. renalis*), nezávislé na plasmatické koncentraci vasopressinu, jde zpravidla o mutaci genu vasopressinového receptoru V2R či jeho celulární signální dráhy.

^d Později Výzkumný ústav pro farmacii a biochemii (VÚFB); na testování se podílela Laboratoř endokrinologie III. interní kliniky všeobecné fakultní nemocnice v Praze.

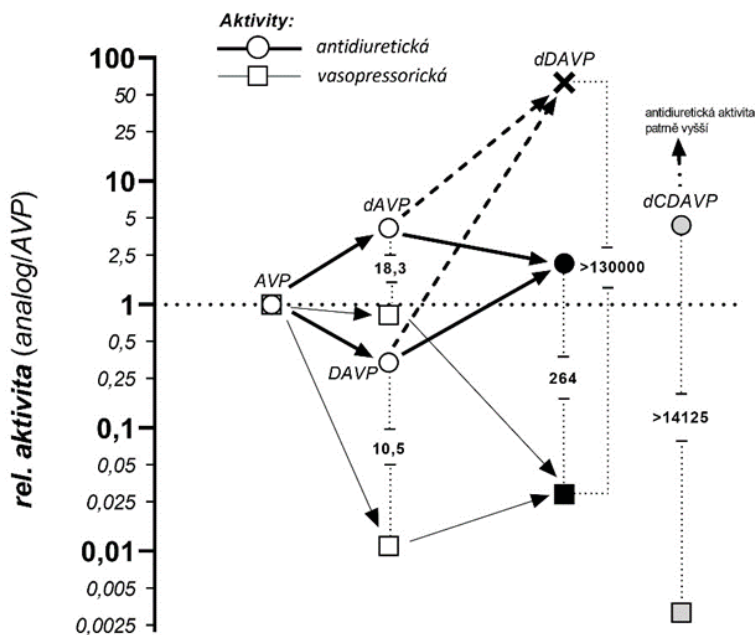
^e Přepočteno z dat ve zmíněných publikacích. Data z VÚFB pro anestetizovanou krysou jsou vztažena na tehdejší mezinárodní standard, pituitrin (extrakt z hovězí neurohypofýzy), po přepočtu ~31 560 IU/mg; v pokusech na neanestetizovaných krysách (standard: syntetický 8-lysin-vasopressin – LVP) ~25 000 až 50 000 IU/mg.

a dostatečně spolehlivé⁸: jednotlivé laboratoře udávaly hodnoty pro dDAVP mezi 870 IU/mg (cit.⁷) a zhruba 50 000 IU/mg (cit.^{9,10})^e. Hodnotu dolní meze, později znovu citovanou⁵, uvádějí autoři první (předběžné) publikace⁶, aniž zmiňují podstatně vyšší aktivity nalezené v tehdy dosud neukončených testech z ÚOCHB. Tyto pozoruhodné diskrepance lze snad částečně vysvětlit citlivostí dDAVP na i poměrně malé rozdíly v použitých testech, především však použitím často zcela rozdílných testů a v neposlední řadě nejednotnou numerickou formulací aktivit. Údaje anti-diuretických aktivit z jednotlivých laboratoří pocházejí z testů na neanestetizovaných krysách hydratovaných jednorázovou perorální dávkou izotonického hydratačního media¹¹ (s 1–2 % ethanolu, nebo bez alkoholu), nebo krys s trvale udržovanou hydratací odpovídající 8–10 % tělesné váhy zvířete^{12,13}. Anti-diuretický efekt je vztažen na celkový objem či váhu vyloučené moči, tedy veličinu definovanou ve farmakologických měřeních jako AUC (area-under-the curve), hodnotu časového integrálu diuretické křivky. V případě, kdy aktivita je definována jako podíl k danému standardu (zde tedy AVP), musí AUC být vztažen na definovanou časovou limitu¹⁴. Není-li tomu tak, postrádá konečný údaj spolehlivou srovnávací hodnotu. (Tak je tomu např. u některých výše citovaných dat¹⁰).

V případě nerovnoběžných závislostí dávka-účinek je tudíž pojem relativní specifické aktivity neadekvátní a dovoluje jen srovnání ekvipotentních dávek (dávek dvou látek působících stejný účinek) na různých úrovních účinku.

Obr. 1 znázorňuje spektrum publikovaných anti-diuretických a vasopressorických aktivit jednotlivých „mezistupňů“ vývoje dDAVP a zároveň i index preference pro anti-diuretickou aktivitu (čísla mezi svislými šipkami), zde *ad hoc* definovaný jako produkt poměru anti-diuretická/vasopressorická aktivita \times relativní anti-diuretická aktivita. Jeho vysoké hodnoty pro udávané meze anti-diuretické aktivity dokumentují jeho přednost mezi analogy potenciálně použitelné v substituční terapii žíznivky.

Pokud jde o délku trvání účinků dDAVP: prodloužený účinek byl jeden z parametrů, který byl již od plánované syntézy předpokládán a požadován. Autoři první klinické publikace¹⁰ udávají pro dDAVP 12,75krát pomalejší eliminaci účinku ve srovnání s pituitárním standardem (tj. AVP), což by svědčilo o vysoké metabolické stabilitě analogu v cílových tkáních. Jejich údaje (obr. 1 v citované publikaci) však svědčí o tom, že nešlo o kinetickou analýzu a udávaná vysoká charakteristika perzistence není důvěryhodná. Srovnání směrnic lineárních částí závislosti dávka-účinek¹⁴ naznačuje přibližný index perzistence (I_p)



Obr. 1. Schéma designu dDAVP předpokládajícího kumulaci požadovaných aktivit peptidů s izolovanou strukturální změnou. Anti-diuretická (kroužky) a vasopressorická (čtverce) aktivita analogů arginin-vasopressinu (AVP), deamino-arginin-vasopressinu (dAVP), D-arginin-vasopressinu (DAVP) a kombinovaného peptidu deamino-D-arginin-vasopressinu (dDAVP, černé symboly). Rozdíly obou aktivit jsou označeny svislými tečkovanými spoji, čísla mezi nimi udávají „*ad hoc* index preference“ pro anti-diuretickou aktivitu: produkt poměru anti-diuretická/vasopressorická aktivita \times relativní anti-diuretická aktivita (analog/AVP). Dva údaje anti-diuretických aktivit pro dDAVP odpovídají rozdílným údajům z různých zúčastněných laboratoří, používajících často rozdílné anti-diuretické testy (viz text); nižší hodnota se vztahuje k extrapolované (prahové) dávce peptidu, specifická aktivita pro vyšší dávky¹⁰ není jednoznačně definována (\times označuje přibližnou horní hranici dat uváděných v literatuře). Schéma naznačuje, že v případě dDAVP byl předpoklad kumulace strukturálních modifikací v různých polohách peptidového řetězce do značné míry splněn. Pro srovnání jsou uvedeny aktivity dCDAVP (šedé symboly; viz text). Anti-diuretická aktivita (2200 IU) byla testována na neanestetizované kryse²¹; její hodnota v testu (krysa v ethanolové narkóze) je podle autorů velmi vysoká a standardní metodou neměřitelná. Index preference je tudíž ve srovnání s dDAVP mnohem vyšší.

v mezích 2,5 a 3,9. Rovněž údaje poločasu diurézy v následující publikaci⁹ dovolují hrubý údaj ineksu perzistence (použitím např. přepočtu podle Kimury a Yokoyamy¹⁵), v důsledku volby neadekvátních experimentálních podmínek však neumožňují detailní analýzu. Nicméně, přepočet naznačuje $I_p \approx 2$, tedy hodnotu blízkou předpokladu. Ačkoliv v pracích T. Bartha a jeho skupiny na ÚOCHB byla kinetická analýza různých řad neurohypofyzárních peptidů prováděna velmi důkladně, dDAVP do těchto studií zahrnut nebyl. Zvýšenou perzistencí a s ní spojený prodloužený účinek je patrně spojen s hydrolyzou N-terminální peptidové vazby (cysteintyrosin), která v analogických případech vede k dvoj- až čtyřnásobnému zvýšení indexu perzistence. Udávané extrémní hodnoty perzistence v citované publikaci¹⁰ jsou

tedy patrně důsledkem předávkování tohoto velmi účinného anti-diuretika v citovaných pokusech.

Terapeutický potenciál dDAVP byl ovšem rychle odhadnut a substance sama byla kryta americkým patentem¹⁶ (US 3,497,491; Feb. 24, 1970; obr. 2). Eventuální další patenty se tedy mohly týkat pouze produkčního postupu, případně nových aplikací. V tomto směru měl Ferring v době udělení patentu již vybudovanou potřebnou infrastrukturu a licenční podmínky byly tudíž pro obě strany – ČSAV a Ferring – výhodné. Licenční dohoda mezi Československou akademií věd (podpis na dohodě: K. Friml, Secretary General), Polytechnou^f (dva nečitelné podpisy) a Ferringem (S. Matarasso, Managing Director; J. Mulder, Research Director) byla uzavřena v Praze v roce 1971.

United States Patent Office

3,497,491

Patented Feb. 24, 1970

1

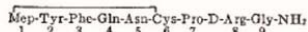
3,497,491

1-DEAMINO-8-D-ARGININE VASOPRESSIN

Milan Zaoral, Ivan Vavra, Alena Machova, and Frantisek Sorm, Prague, Czechoslovakia, assignors to Československa Akademie Ved., Prague, Czechoslovakia
No Drawing. Filed Sept. 14, 1967, Ser. No. 667,679
Claims priority, application Czechoslovakia, Sept. 15, 1966, 5,996/66

Int. Cl. C07c 103/52; A61k 17/00; C07d 93/36
U.S. Cl. 260—112.5

1 Claim

ABSTRACT OF THE DISCLOSURE

wherein Mep is β -mercaptopropionic acid (Mep) at position 1 and D-arginine is at position 8.

The compound of the invention has a high and specific antidiuretic action.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Compounds exhibiting a high and specific antidiuretic activity are important in the therapy of diabetes insipidus. Such compounds are well known and represent structural modifications of the vasopressin molecule. The most suitable properties have been observed in the case of 1-deamino-Phe²-Arg⁸-vasopressin (cf. the table below).

SUMMARY OF THE INVENTION

It is an object of the present invention to provide for an antidiuretic that has a higher degree of activity and is more specific in its action than the just named vasopressin compound.

This is accomplished by a polypeptide of

2

which latter is then oxidized, preferably with potassium ferricyanide in an aqueous solution at pH 6.5–7 to give the polypeptide of Formula I.

The protected octapeptide derivative of Formula II can also be obtained by other procedures such as are conventional in the preparation of polypeptides. The compound II may be thus prepared by a stepwise synthesis starting with the amino terminal group as well as the carboxylic terminal group, or by coupling of polypeptides containing the partial amino acid sequences of the final polypeptide of Formula I. The temporary protection of the amino groups, mercapto (sulfhydryl) groups and of the guanidine group may be performed by means of substituents that are conventional in the synthetic chemistry of polypeptides. E.g., a t-butyloxycarbonyl, o-nitrophenylsulfenyl or trityl group can be used for blocking of the amino groups, a trityl, benzoyl, or benzylthiomethyl group for the protection of the sulfhydryl function, and a tosyl or benzyloxycarbonyl group for the protection of the guanidine group.

The protective groups are then removed in the usual manner in one stage or successively. Oxidation of the reduced form of the polypeptide of Formula III to the cyclic polypeptide of Formula I may be accomplished by methods known per se, for instance, in an aqueous solution or in a mixture of water and solvents miscible with water.

Preferably, the following method is used. Condensation of β -benzylmercaptopropionyl chloride with tyrosine methyl ester leads to the so far unreported β -benzylmercaptopropionyl-L-tyrosine methyl ester. By the action of hydrazine hydrate, the latter compound is converted to the so far likewise unreported hydrazide and is then coupled with L-phenylalanine methyl ester. The resulting dipeptide ester derivative is condensed, again in the form of the azide, with L-glutamyl-L-asparaginyl-L-phenylalanine methyl ester.

Obr. 2. U.S. patent chránící dDAVP jako substanci a původní postup její syntézy, únor 1970

^f Polytechna (dnes: Polytechna Consulting, a.s.) byl státní podnik zahraničního obchodu, který zprostředkoval též výměnné zdravotnické služby, včetně lidské síly v zahraničí. Jeden z autorů (A.P.) upozorňuje na údaje kolegů-lékařů, kteří zprostředkováním Polytechny odjížděli pracovat např. na Maltu nebo do severní Afriky: Polytechna si přivlastňovala velkou část jejich výdělků. Na druhé straně bylo známo, že ten, kdo vyjel prostřednictvím Polytechny, byl podezřelý ze spolupráce s vládními a stranickými špiónážními složkami (KŠČ a STB).

Klinické využití dDAVP bylo pak v druhé polovině 70. let rozšířeno o hematologické aplikace, vycházející ze studií o hemostatickém účinku vasoaktivních peptidů. Cash a spol.¹⁷ (Regional Blood Transfusion Centre, Royal Infirmary, Edinburgh) poukázali na zvýšené vyplavování aktivátoru plasminogenu a koagulačního faktoru VIII po intravenózní aplikaci neurohypofyzárních hormonů vasopressinového typu, včetně dDAVP. Později rozšířili tuto studii o další zajímavá analoga¹⁸. Pozoruhodně vysokou hemostatickou aktivitu našli u 6-karba-analogu dDAVP (dCDAVP); naproti tomu zcela neúčinný byl 8-arginin-vasotocin. Použití dDAVP ke zvýšení koncentrace faktoru VIII u pacientů s lehčí formou hemofilie A, von Willebrandova-Jürgensova syndromu a trombocytárních dysfunkcí popsal pak hematolog Pier Mannuccio Mannucci z milánské univerzity se spolupracovníky^{19,20}. Prevalence těchto poruch hemostáze, zpravidla dědičných, je zjevně vyšší než prevalence *diabetes insipidus*; dDAVP (Minirin® Ferring, Desmopressin INN) našel tak širší uplatnění při akutních lehčích spontánních krváceních a při menších chirurgických zásazích (ku příkladu ve stomatologii)^g. To vše velice podstatně zvýšilo význam licence, kterou Ferring dohodou s ÚOCHB získal.

Případ dDAVP zároveň demonstruje časté rozdíly v úplnosti farmakologických a klinických dat. Zatímco klinická dokumentace dDAVP je obsáhlá a detailní, spolehlivé farmakologické údaje jsou nedostatečné. Ne zcela vysvětlitelné jsou zmíněné rozpory v údajích aktivit mezi jednotlivými laboratořemi, chybějící farmakokinetická data a ostatně i doklad o tom, že dDAVP představuje pro klinické účely optimální volbu ve skupině analogů s velmi podobným spektrem aktivit. Publikovaná data naznačují, že pro stejné terapeutické aplikace by takovým mohl být ku příkladu později syntetizovaný karba-6-analog dDAVP²¹, 1-deamino-8-D-arginin-6-karba-vasopressin (dCDAVP, obr. 1). S ohledem na úspěch, který dDAVP v klinickém použití doznal, není ovšem tato akademická kritika zcela podstatná.

Triglycyl-8-lysin-vasopressin (Terlipressin)

V počáteční fázi licenčních dohod ÚOCHB s Feringem figurovala vedle dDAVP také skupina analogů neurohypofyzárních hormonů s prodlouženým peptidovým řetězcem na N^α-koncové aminoskupině, pro něž se ujalo (původně pracovní) označení „hormonogeny“²². Jejich syntéza byla motivována představou, že převládající inaktivační proces oxytocinu a vasopressinu vzniká štěpením peptidové vazby mezi 1-hemicystinem a 2-tyrosinem aminopeptidasami, patrně enzymem leucin-aminopeptidasového typu²³. Od prodloužení N-konce amidopeptidasami štěpitelnou aminokyselinou či krátkým peptidovým řetězcem se očekávalo postupně (a dočasné) uvolňování aktivního hormonu a tudíž prodloužení příslušného

biologického účinku *in vivo*²⁴. Tento předpokládaný mechanismus byl postupně potvrzen syntézou řady analogů 8-lysin-vasopressinu^{22,25–27} a oxytocinu^{28,29} s výrazně prodlouženými účinky antidiuretickými, vasopresorickými a uterotonickými, s indexem perzistence I_p mezi 1 (pro lehce štěpitelné aminoacidové substituenty – leucin, tyrosin) až 5. N^α-(Gly)₃-[Cys¹,Lys⁸]vasopressin, jehož standardní biologické aktivity na kryse jsou sice nízké (antidiuretická 2,7, vasopresorická 2,1 IU/μmol, t.j. kolem 0,5 % aktivit lysin-vasopressinu), index perzistence ale vysoký ($I_p \approx 5$)²², naznačoval ve farmakologických testech možnost klinického využití jako vasokonstričního spazmolytika zvyšujícího periferní vaskulární rezistenci při hrozcím hemoragickém šoku. Prodloužený terapeutický účinek je výhodou především v akutních stavech ezofageálním a jiným gastrointestinálním krvácením³⁰, traumatickém a septickém šoku, u cirhotických pacientů s portální hypertensí³¹ a s tzv. hepatorenálním syndromem³². (Stručný přehled klinického použití publikovali v roce 2004 Kam a spol.³³).

Analoga 8-lysin-vasopressinu acylované glycinovými peptidy na N-koncové aminoskupině byly původně chráněny československým patentem CS 4,399/64 (1.8.1964), později patenty v dalších zemích včetně Spojených států (US 3,558,590; July 30,1968). Patenty kryjí, velmi obecně, deriváty lysin-vasopressinu N-acetylované „krátkými peptidy obsahujícími glycin“, tedy rozsáhlou skupinu peptidů včetně meziproduktů jejich syntézy uváděné spolu s diglycyl- a triglycyl-analogem jako příklady. Licenci na jejich produkci získal Ferring již v první fázi spolupráce s ÚOCHB a registroval druhý z nich pod názvem Terlipressin (INN, Glypressin®). Z četných publikací po roce 1974 lze vyvodit jeho rychlé rozšíření v četných klinikách, i když v omezeném rozsahu aplikací.

V klinickém zkoušení byla také případná možnost použití triglycyl-vasopressinu jako kontraceptiva. Tento peptid hormonogenného typu má značně protražovaný presorický účinek a nízký, vasopressinu podobný uterotonický efekt. Předpokládalo se, že peptid během I. trimestru těhotenství způsobuje kontrakční činnost hladké svaloviny dělohy a tím smrt plodu. Odhlížeje od etické stránky testování podobných hypotéz, naráží zde fyziologický výzkum na téměř nepřekonatelné potíže: průběh decidualizace a struktura placenty jsou u jednotlivých savců zásadně odlišné a tudíž data získaná v pokusech na zvířeti nelze v tomto specifickém případě v humánní medicíně použít. Pokud je nám známo, další kroky v tomto směru nebyly podniknuty.

Carbetocin: veterinární a humánní uterotonikum

Motivace syntézy a farmakologické závěry

Carbetocin (INN)^h, deaminokarba¹-2-O-methyltyrosin-oxytocin, dnes rozšířené uterotonikum, byl syntetizován

^g Pro zajímavost: dDAVP pronikl, byť epizodicky, i do současné anglické beletrie; viz Barbara Vine: *The Blood Doctor*, Viking – Penguin Random House, London 2002.

^h Generikum pod názvem DURATOCIN®

před rokem 1971 v laboratoři Karla Jošta v rámci výzkumu potenciálních antagonistů oxytocinu. Ohlášen byl k patentování v Československu v únoru 1971; udělení čs. patentu (CS-149028 B1; 15. 6. 1973)³⁴ následovalo v červnu 1973. Jak je zřejmé, nešlo o ochranu látky samotné – to nebylo v československém patentním řízení té doby přípustné, nýbrž o postup její přípravy. Bližší popis tehdy použité syntézy spolu s údaji o biologických aktivitách byl popsán v roce 1974 v publikaci o fyzikálně-chemických vlastnostech karba-analogů oxytocinu³⁵. Tato publikace poprvé zahrnující též carbetocin je z různých hledisek pozoruhodná, uvedené biologické aktivity carbetocinu (zmíněné spíše na okraj) nevzbudily však z farmakologického hlediska zvláštní pozornost: uterotonická aktivita v pokuse na krysí děloze byla zhruba 3,5 % (*ex vivo*) a 7 % (*in vivo*) aktivity oxytocinu; výrazný antagonismus *ex vivo* zprvu prokázán nebyl. Byl však dokumentován v pozdějších pokusech na izolovaných buněčných membránách krysího myometria³⁶. Stejná studie prokázala, že jde o parciálního agonistu oxytocinu (maximální kontrakce dělohy *ex vivo* dosáhla 50 % kontrakce inicializované oxytocinem), patrně v důsledku inhibice části oxytocinových receptorů carbetocinem samotným a jeho postupně vznikajícími metabolity (tab. I, obr. 3). Inhibici oxytocinu *in vivo* a s ní spojený tokolytický účinek nebylo tudíž možné předpokládat, peptid vykazoval zhruba 10× nižší uterotonickou aktivitu oxytocinu (viz tab. I). Poločas uterotonického účinku *in vivo* u křesy je relativně k oxytocinu několikanásobně delší³⁷ (poměr rychlostních konstant eliminace je 3,5), především patrně v důsledku vypuštění N-terminální aminoskupiny (farmakologická data jsou shrnuta v tab. I). V souhrnu se tedy carbetocin ve srovnání

s oxytocinem jevil jako dlouhodobě působící agonista se slabším uterotonickým efektem. V té době však byla antagonisticky působící oxytocinová analoga jedním z prioritních zájmů pražského ÚOCHB³⁸ a tímto zájmem byla též motivována syntéza carbetocinu. K tomu několik poznámek:

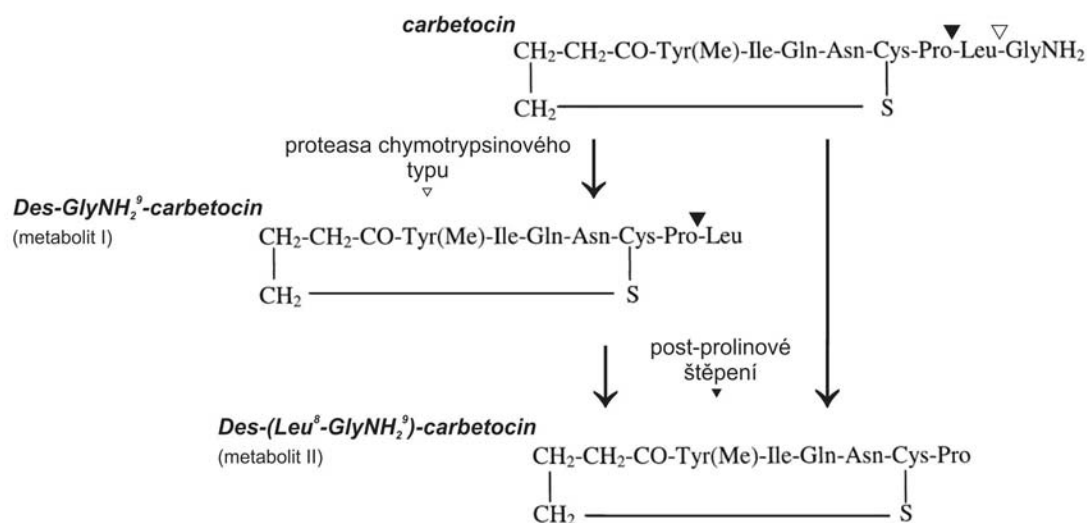
Antagonismem uterotonických účinků oxytocinu v širším smyslu se v druhé polovině 60. let zabýval především Josef Rudinger na ÚOCHB a skupina Ivana Krejčího na VÚFB. Jejich studie byly shrnuty v řadě publikací^{23,38,39}. Zájem o antagonisty oxytocinu na této bázi byl podnícen rovněž možností jejich použití v klinické praxi při hrozícím spontánním potratu (*abortus imminens*) a trval i po odchodu Josefa Rudingera do Švýcarska v roce 1968. Koncem 60. let syntetizoval Karel Jošt 1-N^α-acetylcystein-2-O-methyltyrosin-oxytocin⁴⁰, jeden z prvních inhibitorů uterotonického účinku oxytocinu, chráněný patenty ve více než dvou desítkách zemí (ve Spojených Státech US 3,752,799; Aug. 14, 1973, US 260-112.5, Int. Patent No. 3,752,799; cit.⁴¹). Ještě před publikací projevil zájem o toto potenciální tokolytikum Jan Mulder a spolu s jedním z nás (V.P.) připravoval v říjnu 1969 podklady pro klinickou registraci ve Švédsku. Doklady o dalším licenčním jednání s ÚOCHB nejsou známy; pravděpodobné je, že licence byla udělena, ale další vývoj analogu ve Švédsku nepokračoval. Možné je, že další kroky v klinických zkouškách byly odloženy v očekávání, že nově syntetizované látky budou případně mít výhodnější antagonistické vlastnosti než stávající peptid s poměrně nízkou inhibiční konstantou – na krysí děloze *ex vivo* se udává $pA_2 = 7,03$ (cit.⁴²)ⁱ. Zajisté byly další kroky v tomto směru ovlivněny i náhlým úmrtím Jana Muldera v roce

Tabulka I
Carbetocin a inhibitory uterotonické aktivity oxytocinu

| | Parametry uterotonického účinku (krysa) | | | | | Poločas eliminace [min] | | |
|-----------------------------|---|----------------|--------|--|-----------------------|-----------------------------|---|--------------------|
| | aktivita [IU/mg] | | pD_2 | partiální agonismus (relativní E_{max}) | antagonismus pA_2^a | člověk | | krysa ^d |
| | <i>in vivo</i> | <i>ex vivo</i> | | | | netěhotné ženy ^b | <i>post partum</i> ^c (24–48 h) | |
| Oxytocin | 470 | 485 | 8,28 | 1 | | 5,5–6,1 | | 2,5 |
| Carbetocin | 45 | 17,1 | 7,32 | 0,52 | 8,21 | 41–42,7 | 60 | 8,8 |
| Metabolit I ^c | | | | | 7,81 | | | |
| Metabolit II ^c | | | | | 8,01 | | | |
| Atosiban | | | | | 8,29 | | | |
| Ac-Tyr(Me)-OXT ^f | | | | | 7,03 | | | |

^a Antagonistická aktivita vůči oxytocinu *in vitro* (pA_2 ; viz text, pozn.¹). Dolní část tabulky zahrnuje další potenciální inhibitory zmíněné v textu, včetně metabolitů carbetocinu. ^b Plasmatická clearance (Sweeney et al. 1990, cit.⁴⁸); ^c Clearance odvozená z uterotonického účinku (Hunter et al. 1992, cit.⁴⁹); ^d Clearance odvozená z uterotonického účinku (Barth a spol. 1980, cit.³⁷); ^e Identifikované štěpné produkty carbetocinu³⁶. ^f N^α-acetyl-2-O-methyltyrosin-oxytocin⁴⁰

ⁱ pA_2 : negativní dekadický logaritmus molární koncentrace antagonisty redukující efekt E libovolné koncentrace agonisty na polovinu, $E/2$.



Obr. 3. Potenciální metabolity carbetocinu identifikované *in vitro* a jejich antagonistické vazby (pA_2) na oxytocinovém receptoru (krysa)³⁶. V prvním stupni se předpokládá paralelní štěpení C-terminální peptidové vazby leucin-glycinamid („chymotrypsin-like enzyme“^{50–52}, bílý trojúhelník; metabolit I) a enzymem hydrolyzujícím vazbu Pro⁷-Leu⁸ („postproline cleavage enzyme“^{53,54}, černý trojúhelník; metabolit II), v dalším stupni následné štěpení metabolitu I na konečný metabolit II

1976. Intenzivní vývoj nových antagonistů v Malmö pokračoval po nastoupení nového ředitele výzkumu Hanse Vilhardta, převážně pod vedením farmakologa Per Melina. Jeho výsledkem byl v druhé polovině 80. let analog 1-deaminocystein-8-ornitin-oxytocin s dalšími změnami v poloze 2 (D-O-ethyltyrosin) a 4 (threonin)⁴³, který se stal postupně standardním inhibítorem v experimentální farmakologii a fyziologii neurohypofyzárních peptidů (pA_2 = 8,29) a jako Atosiban (INN) rozšířeným klinickým tokolytikem^{44 j}.

Zdá se, že neprokazatelnost antagonismu u carbetocinu byla pro pražskou peptidovou skupinu zklamáním a ani jeho agonistické účinky neslibovaly výrazné výhody ve srovnání s jinými uterotoniky. Vysvětlovalo by to okolnost, proč tento analog, resp. jeho původní syntéza, nebyl chráněn v zemích, jejichž farmaceutický průmysl byl schopen v krátkém čase zajistit jeho produkci. Jeho patentové krytí nebylo tudíž příliš důsledné a řada firem má carbetocin ve svých nabídkách. Podmínky, za jakých převzal Ferring v této situaci carbetocin do svého výrobního programu (patrně opět v licenci Čs. akademie věd), nemohli autoři tohoto sdělení zjistit.

Carbetocin jako veterinární léčivo

Jeho první klinické použití ve veterinární medicíně spadá do druhé poloviny 70. let. Patrně z popudu Karla Jošta (ÚOCHB) převzal veterinární klinický vývoj carbe-

tocinu a jeho zavedení do veterinární praxe Výzkumný ústav pro biofaktory a veterinární léčiva v Pohoří-Chotouni u Jílového (jeho ředitelem byl Bohumil Ševčík; ústav byl v červnu 1994 zakoupen firmou FATRO SPA, Bologna). Dokumentace pro FDA (Food and Drug Administration^k) ve formě „Drug Master File“ (DMF)^l pro léčivou látku (Depotocin[®]) byla sestavena v pražské společnosti PolyPeptide Laboratories s.r.o. (PPL, viz níže) pro firmu Veyx-Pharma GmbH, Sachwarzenborn (Hessen). Deklarovaným cílem bylo usnadnění a vedení porodu u krav a prasnic, především ale snaha dosáhnout synchronizovaného porodu ve velkochovech, v nichž zvířata byla uměle inseminována ve stejný den. Očekávalo se též omezení nutné asistence veterinárních lékařů při porodech – tedy charakteristické cíle z kolektivizovaného chovu užitkových zvířat. Ukázalo se však, že zatímco porod mláďat bylo možno prakticky synchronizovat, porod placenty probíhal nezávisle a měl odlišný průběh. Přesto se stal carbetocin ve veterinární medicíně běžně užívaným prostředkem k indukci a vedení porodu; jevil se jako obecně šetrnější ve srovnání s oxytocinem už tím, že snižoval frekvenci porodních a poporodních komplikací. Zdůrazňovanou předností bylo bezpečnější vedení porodu u krav⁴⁵ a zvláště u (multiparitních) prasat^{46,m}, absence tetanické kontrakce uteru (časté při použití oxytocinu), zamezení poporodní hypoxie/asfyxie selat a urychlení involuce dělohy *post partum* u krav⁴⁷.

^j Tractocile[®], FERRING Pharmaceuticals A/S

^k Státní instance povolující užití léčiv a poživatin v U.S.A. Její rozhodnutí jsou téměř universálně přebírána i mimo U.S.A..

^l https://de.wikipedia.org/wiki/Drug_Master_File

Zde je nutno podotknout, že výzkum prováděný ve jmenovaném ústavu nebyl *in extenso* publikován. Prvé publikace z jiných laboratorí pocházejí z let 1977–1979. Výzkum ve veterinární medicíně však později usnadnil zavedení carbetocinu v humánní medicíně, především v porodnické praxi.

Carbetocin, humánní klinická aplikace

V humánní medicíně se carbetocin stal v posledním desetiletí celosvětově používaným lékem pro prevenci a léčbu porodnického krvácení, z hlediska matky nejčastější a nejnebezpečnější komplikací porodu.

K fyziologické zástavě porodního krvácení dochází po porodu dítěte ve III. době porodní v důsledku redistribuce v cirkulaci krve a současně k aktivaci hemostatických faktorů. Tato závěrečná část porodu je časově přesně klinicky ohraničena: začíná porodem dítěte (plod přestává být plodem a stává se novorozencem) a končí porodem placenty. Při oddělování placenty od stěny dělohy je hemostáza řízena kombinací dvou mechanismů:

- retrakci hladké svaloviny dělohy (myometrium). Tím vzniká komprese cévního řečiště, kterým byla zásobena vedle myometria i placenta. Výsledkem je mechanická hemostáza;
- hemostatickými faktory z děložní sliznice v těhotenství (deciduaⁿ), kdy působí tkáňový faktor, inhibitor aktivátoru plazminogenu typu 1, systémové koagulační faktory (fibrinogen apod.), které způsobují srážení krve.

V patologických případech dochází k poruše alespoň jednoho ze čtyř zúčastněných faktorů označovaných také jako 4T (tonus – trauma – tkáň – trombin); následkem může být závažné, až život ohrožující krvácení. Peripartální krvácení (*peripartum/postpartum hemorrhage*, dále také PPH) patří mezi pět nejčastějších příčin úmrtí žen v souvislosti s těhotenstvím, porodem a šestineděním (trombembolická nemoc, hypertenzní choroby, kardiopatie, sepse a PPH). Je tomu tak jak v zemích s vysokými, tak i nízkými příjmy na obyvatele, i když absolutní riziko úmrtí na peripartální krvácení v zemích s vysokými příjmy je mnohonásobně nižší.

Pro snížení rizika PPH u všech vaginálních porodů ve III. době porodní a po vybavení plodu při porodu císařským řezem, byl dosud lékem první volby intravenózně nebo intermuskulárně aplikovaný oxytocin. Od druhé poloviny 90. let minulého století se v klinické medicíně ke stejným účelům stále častěji uplatňuje carbetocin. Mechanismus účinku obou peptidů je stejný,

ve III. době porodní (porod placenty) zvyšují stažení (retrakci) dělohy, a tím působí proti hypotonii nebo dokonce atonii dělohy, což bývá až v 80 % příčinou peripartálního život ohrožujícího krvácení (podle definice se jedná o krevní ztrátu vyšší než 1500 ml krve matky). Ve srovnání s oxytocinem je výraznou předností carbetocinu, jako uterotonika v této kritické porodnické situaci, jeho podstatně delší eliminační poločas (přibližně 8krát u netěhotných žen⁴⁸, 10- až 20krát 24–48 hodin *post partum*⁴⁹). Má tudíž mnohem delší účinek než oxytocin. Podává se pouze intravenózně, rychlostí 100 µg během jedné minuty. V případě carbetocinu nejsou přitom popisovány závažné vedlejší účinky.

V důsledku neúplného patentového chránění carbetocinu jako substance produkuje od počátku 21. století několik firem na jeho bázi i veterinární léčiva (Depotocin[®]: Veyx Pharma, Germany; WDT, Germany; Veyx-Pharma, Netherlands a Tettang, Baden-Württemberg, BRD; Decomoton[®]: Calier Polska; Laboratorios Calier SA, Barcelona; atd.)^o. Ferring AB však zůstává nejvýznamnějším distributorem jeho lékových forem (pod různými jmény^p) pro humánní medicínu.

Carbetocin, navržený a poprvé syntetizovaný v laboratoři Karla Jošta na pražském Ústavu organické chemie a biochemie, se tak stal díky úzké spolupráci se švédskou firmou účinným, často používaným lékem v kritických porodnických stavech.

LITERATURA

1. Pliska V., Pařízek A., Flegel M.: Chem. Listy 116, 19 (2022).
2. Pliska V., Pařízek A., Flegel M.: Chem. Listy 113, 675 (2019).
3. Huguenin R. L., Boissonnas R. A.: Helv. Chim. Acta 49, 695 (1966).
4. Sawyer W. H., Acosta M., Balaspiri L., Judd J., Manning M.: Endocrinology 94, 1106 (1974).
5. Manning M., Balaspiri L., Moehring J., Haidar J. H. S. W.: J. Med. Chem. 19, 842 (1976).
6. Zaoral M., Kolc J., Šorm F.: Collect. Czech. Chem. Commun. 32, 1242 (1967).
7. Zaoral M., Kolc J., Šorm F.: Collect. Czech. Chem. Commun. 32, 1250 (1967).
8. Pliška V., Krejčí I.: Arch. Int. Pharmacodyn. 161, 289 (1966).
9. Vávra I., Machová A., Krejčí I.: J. Pharmacol. Exp. Ther. 188, 241 (1974).
10. Vávra I., Machová A., Holeček V., Cort J. H., Zaoral

^m Autor tohoto sdělení není totožný s J. H. Cortem (Joseph Henry Cort): Nicholas Cort, PhD, DVM, Department of Obstetrics & Gynecology, College of Veterinary Medicine, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, je uváděn jako Senior research scientist ve FERRING Pharmaceuticals. Autorům není známo, zda je v příbuzenském poměru s J. H. Cortem.

ⁿ <https://www.wikiskripta.eu/w/Decidua>

^o Přehled firem: <https://www.drugs.com/international/carbetocin.html>

^p Lonactene[®], Duratocin[®], Pabal[®], Duratobal[®].

- M., Šorm F.: *Lancet* 291, 948 (1968).
11. Burn J. H.: *Quart. J. Pharm. Pharmacol.* 4, 517 (1931).
 12. Pliška V., Rychlík I.: *Acta Endocrinol.* 54, 129 (1967).
 13. Sawyer W. H.: *Endocrinology* 63, 694 (1958).
 14. Pliška V.: *Arzneim.-Forsch.* 16, 886 (1966).
 15. Kimura T., Yokoyama R.: *Tohoku J. Exp. Med.* 109, 281 (1973).
 16. Zaoral M., Vavra I., Machova A., Sorm F.: US Patent: US 3497491 DA (1970).
 17. Cash J. D., Gader A. M., da Costa J.: *Br. J. Haematol.* 27, 363 (1974).
 18. Prowse C. V., Sas G., Gader A. M. A., Cort J. H., Cash J. D.: *Br. J. Haematol.* 41, 437 (1979).
 19. Mannucci P. M., Ruggeri Z. M., Pareti F. I., Capitanio A.: *Lancet* 310, 1171 (1977).
 20. Mannucci P. M., Ruggeri Z. M., Pareti F. I., Capitanio A.: *Lancet* 309, 869 (1977).
 21. Jošt K., Procházka Z., Cort J. H., Barth T., Škopková J., Prusík Z., Šorm F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 39, 2835 (1974).
 22. Kynčl J., Řežábek K., Kasafírek E., Pliška V., Rudinger J.: *Eur. J. Pharmacol.* 28, 294 (1974).
 23. Rudinger J., Pliška V., Krejčí I.: *Rec. Prog. Hormone Res.* 28, 131 (1972).
 24. Pliška V., Chard T., Rudinger J., Forsling M. L.: *Acta Endocrinol.* 81, 474 (1976).
 25. Kasafírek E., Rábek V., Rudinger J., Šorm F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 31, 4581 (1966).
 26. Zaoral M., Pliška V., Řežábek K., Šorm F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 28, 747 (1963).
 27. Zaoral M., Šorm F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 30, 2812 (1965).
 28. Jošt K., Rudinger J., Šorm F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 28, 2021 (1963).
 29. Beranková-Ksandrová Z., Bisset G. W., Jošt K., Krejčí I., Pliska V., Rudinger J., Rychlík I., F. Š.: *Br. J. Pharmacol.* 26, 615 (1966).
 30. Cort J. H., Hammer J., Ulrych M., Píša Z., Douša T., Rudinger J.: *Lancet* 284, 840 (1964).
 31. Rabøl A., Juhl E., Schmidt A., Winkler K.: *Digestion* 14, 285 (1976).
 32. Döhler K. D., Meyer M.: *Best Pract. Res., Clin. Anaesthesiol.* 22, 335 (2008).
 33. Kam P. C. A., Williams S., Yoong F. F. Y.: *Anaesthesia* 59, 993 (2004).
 34. Jošt K., Barth T., Krejčí I., Šorm F.: CS Patent: CS-149028 B1 (1973).
 35. Frič I., Kodíček M., Jošt K., Bláha K.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 39, 1271 (1974).
 36. Engström T., Barth T., Melin P., Vilhardt H.: *Eur. J. Pharmacol.* 355, 203 (1998).
 37. Barth T., Slaninová J., Lebl M., Jošt K.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 45, 3045 (1980).
 38. Rudinger J., Krejčí I., v knize: *Neurohypophysial Hormones and Similar Polypeptides* (Berde B., ed.), str. 748. Springer Verlag, Berlin 1968.
 39. Krejčí I., Poláček I., Rudinger J.: *Br. J. Pharmacol. Chemotherapy* 30, 506 (1967).
 40. Jošt K., Šorm F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 36, 297 (1971).
 41. Jost K., Pliska V., Krejčí I., Sorm F.: US Patent: US 3,752,799 (1973).
 42. Krejčí I., Kupková B., Barth T., Jošt K.: *Physiol. Bohemoslov.* 22, 315 (1973).
 43. Melin P., Trojnar J., Johansson B., Vilhardt H., Åkerlund M.: *J. Endocr.* 111, 125 (1986).
 44. Åkerlund M., Carlsson A. M., Melin P., Trojnar J.: *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 64, 499 (1985).
 45. Věžník Z., Holub A., Zralý Z., Kummer V., Holčák V., Jošt K., Cort J. H.: *Am. J. Vet. Res.* 40, 425 (1979).
 46. Cort N., Einarsson S., Viring S.: *Am. J. Vet. Res.* 40, 430 (1979).
 47. Bajcsy Á. C., Szenci O., van der Weijden G. C., Doornenbal A., Maassen F., Bartyik J., Taverne M. A. M.: *Theriogenology* 65, 400 (2006).
 48. Sweeney G., Holbrook A. M., Levine M., Yip M., Alfredsson K., Cappi S., Ohlin M., Schulz P., Wassenaar W.: *Curr. Ther. Res.* 47, 528 (1990).
 49. Hunter D. J. S., Schulz P., Wassenaar W.: *Clin. Pharmacol. Ther.* 52, 60 (1992).
 50. Barth T., Pliška V., Rychlík I.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 32, 1058 (1967).
 51. Barth T., Hütter H. J., Pliska V., Šorm F.: *Experientia* 25, 646 (1969).
 52. Glass J. D., Dubois B. M., Schwartz I. L., Walter R.: *Endocrinology* 87, 730 (1970).
 53. Walter R., Schlank H., Glass J. D., Schwartz I. L., Kerenyi T. D.: *Science* 173, 827 (1971).
 54. Yoshimoto T., Orłowski R. C., Walter R.: *Biochemistry* 16, 2942 (1977).

V. Pliska^a, A. Pařízek^b, and M. Flegel^c (^a Department of Biology, Eidgenössische Technische Hochschule (ETH), Zürich, Switzerland, ^b Department of Obstetrics and Gynaecology, 1st Faculty of Medicine of Charles University and General University Hospital in Prague, Prague, Czech Republic, ^c Department of Chemistry of Natural Substances, University of Chemistry and Technology, Prague, Czech Republic): **Neurohypophysial Peptides from Prague and Swedish Laboratories Used as Pharmaceuticals. Part 2: Desmopressin, Terlipressin, Carbetocin – Pharmacology and Clinical Applications**

Licence agreements between the Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Czechoslovak Academy of Sciences, Prague (IOCB), and the pharmaceutical company Ferring AB Malmö enabled the Swedish company to produce and commercialize worldwide a number of neurohypophysial peptides designed at the IOCB. Several of them found therapeutic applications.

dDAVP: 1-deamino-8-D-arginine-vasopressin was designed in one of the IOCB peptide laboratories (M. Zaoral and F. Šorm) in 1967. It displayed an extremely high antidiuretic activity (various tests indicate a 2- to 50-fold increase, as compared to arginine vasopressin) and a very low pressor activity. The peptide (covered by the

U.S. Patent No. 3,497,491, 1970) has been used as a preferred drug in the substitution therapy of the central form of diabetes insipidus (Minirin[®], today as Desmopressin INN). Besides, as later discovered (Mannucci et al. 1977), dDAVP increases the plasma concentration of the blood-clotting factor VIII. This fact extended its clinical use as haemostatics in cases of milder forms of haemophilia A, von Willebrand-Jürgens syndrome and some thrombocyte dysfunctions. Despite of the clinical success of dDAVP, a closer look reveals certain inadequacies in the presently available pharmacological data: several reports declare activity values and the prolongation effect (index of persistence) in very broad ranges.

Triglycyl-8-lysine-vasopressin (Terlipressin), a peptide with lysine vasopressin chain extended at the N-terminal by a triglycine residue, acts mainly as a pro-drug (releasing lysine vasopressin after aminopeptidase splitting at the N^α group). The analogue belongs to the so-called „synthetic hormonogens“; individual peptides carrying various acylating groups were synthesized in the mid-sixties at the IOCB and legally protected by U.S. Patent No. 3,558,590 (1968). It was a part of the licence agreements mentioned above. The activities of triglycyl-8-lysine-vasopressin (both antidiuretic and vasopressor) are about 100 times lower than those of lysine vasopressin, but its persistence is 5 times longer. As such, it is occasionally used in emergency medicine in cases of esophageal (and other gastroenteral) bleeding, traumatic or septic shock, in cirrhotic patients and patients with portal hypertension. Its use as an early abortion drug was discussed but not pursued.

Carbetocin (deaminocarba¹-2-*O*-methyltyrosin-oxytocin) was synthesized in the laboratory of Karel Jošt at the IOCB before 1971; its synthesis was covered by a Czechoslovak patent (CS-149,028 B1) in June 1973 (at that time, Czechoslovak patent law did not provide for the patentability of substances as such) and first published in a biophysical communication by Frič *et al.*, 1974). As a part of the licence agreement, it was included in the production program of Ferring AB, but marketed later also by several other pharmaceutical companies due to an incomplete patent protection. The peptide is a moderately active uterotonic partial agonist and as such has been utilized in veterinary obstetrics for delivery induction in cows and (multiparous) pigs: its milder and better-controlled uterotonic action was found preferential as compared to oxytocin so far used for these purposes. In the last two decades, carbetocin has been commonly used also in the human obstetrics, especially to prevent the peri- and post-partum haemorrhage, from the maternal side the most frequent and most severe delivery complication. It became a life-saving drug in emergency obstetrics.

Keywords: neurohypophysial hormones, oxytocin, vasopressin, deamino-D-arginine-vasopressin, DDAVP, Glypressin, Terlipressin, Ferring company, peptide drugs

- Pliska V., Pařízek A., Flegel M.: Chem. Listy 116, 101–109 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220101>

ÚLOŽNÝ OBALOVÝ SOUBOR PRO VYHOŘELÉ JADERNÉ PALIVO

JANA REJKOVÁ^a, JAN MACÁK^a
a LUMÍR NACHMILNER^b

^a Ústav energetiky, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^b Centrum výzkumu Řež s.r.o., Hlavní 130, Řež, 250 68 Husinec
petruj@vscht.cz

Došlo 30.8.21, přijato 8.11.21.

Klíčová slova: hlubinné úložiště, jaderné palivo, peleta UO₂

● <https://doi.org/10.54779/chl20220110>

Obsah

1. Úvod
2. Vyhořelé jaderné palivo
 - 2.1. Změny v palivu během palivového cyklu
 - 2.2. Změny v palivu během uložení v hlubinném úložišti
3. Závěr

1. Úvod

Zásadní otázkou v bezpečnosti uložení vyhořelého jaderného paliva je životnost a účinnost bariér izolujících radioaktivní odpad od okolního prostředí. Řešením je multibariérový systém ukládání skládající se z několika bariér:

- kompaktní struktura pelety paliva UO₂,
- pokrytí paliva/ palivové proutky,
- obalový soubor,
- bentonitová vrstva,
- úložná hornina.

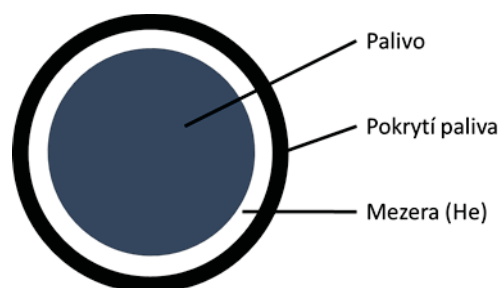
Podoba jednotlivých bariér závisí na konkrétních podmínkách v geologických strukturách státu zabývajících se likvidací jaderného odpadu. V ČR se podmínky hlubinného úložiště řeší pro prostředí krystalických hornin, jako jsou granity, metamorfity, stejně jako např. ve Finsku a Švédsku. V těchto zemích je proces výstavby úložišť v pokročilejších fázích než v ČR a lze tedy jejich zkušenosti a vědecké analýzy aplikovat i na naše podmínky a spolupracovat s jejich organizacemi zajišťujícími vybudování a správu těchto areálů. Ve Švédsku je touto odpovědnou organizací SKB (Svensk Kärnbränslehantering Ab) a ve Finsku Posiva. V obou zemích jsou již vybudované podzemní laboratoře pro ověřování podmínek a výzkum

v hlubinných geologických formacích, ve Švédsku je to laboratoř v Äspö s již navrženou finální lokalitou Forsmark¹, ve Finsku je to laboratoř Onkalo na ostrově Olkiluoto, kde bude umístěno i samotné úložiště. Finsko je také zemí, která je ve vývoji hlubinného ukládání nejdále a jako první rozhodlo o finální lokalitě budoucího úložiště². Obě zmiňované země vychází z koncepce označované KBS-3, kdy je vyhořelé jaderné palivo umístěno v kontejnerech z mědi s ocelovou vložkou, další bariéra bude tvořena bentonitem a hloubka uložení bude cca 400–500 m (cit.³).

2. Vyhořelé jaderné palivo

Nejpoužívanějším jaderným palivem na bázi disperzních keramických materiálů je oxid uranický. Výhody oxidické keramiky jsou vysoká teplota tání, teplotní stabilita, dobře zadržuje štěpné produkty, je velmi dobře korozně odolná a radiačně stabilní. Vlastnosti, které ovlivňují chování paliva z UO₂, jsou hustota, porozita, stechiometrický poměr kyslíku a uranu, štěpením způsobené zhušťování a restrukturalizace⁴. Nevýhodou je nízká hustota štěpných jader, nízká tepelná vodivost, nízká odolnost vůči rychlým teplotním změnám a křehkost.

Keramická paliva jsou uložena v palivovém proutku pokrytém zirkoniovými slitinami ve formě tablet, prostor mezi palivem a jeho pokrytím je vyplněn heliem pro lepší přestup tepla (viz obr. 1). Proutek je tvořen souborem pelet o průměrech 7,6 mm a výšce 9–14 mm u paliva z EDU (elektrárna Dukovany) s označením Gd-2, trubka pokrytí palivového proutku může mít průměry například 9,1 mm u paliva z reaktoru VVER 440 (vodo-vodní energetický reaktor o výkonu 440 MWe) nebo 10,75 mm u paliva z reaktoru VVER 1000 (vodo-vodní energetický reaktor o výkonu 1000 MWe)⁵. Podoba palivových tablet se s měnicemi se nároky na palivový cyklus neustále vyvíjí a upravuje. Starší typy paliva s centrálním otvorem tabletky byly rozměrově měněny, byl měněn také stupeň oboha-



Obr. 1. Průřez palivovým proutkem

cení a zmenšování průměr centrálního otvoru na 1,6 až 1,2 mm. Centrální otvor snižuje teplotu ve středu tablety a dává prostor vznikajícím plynným štěpným produktům. Nové typy paliva ruské firmy TVEL, jako je například uran-gadoliniové palivo druhé generace s označením Gd-2M+, již nemají centrální otvor, což vede ke zvýšení výkonu navýšením množství uranu. Palivo je obohaceno izotopem uranu 235 na hodnotu 4,38 % a byla zvýšena střední velikost zrn v peletce na 25 μm , což vede k menšímu úniku štěpných produktů z nitra peletky. Čela tabletek mají čochovitě vybraní, takže dochází ke kontaktu peletek pouze v obvodových částech, kde je teplota nejnižší⁵.

Pro účely dalšího nakládání s vyhořelým jaderným palivem existují databáze jaderného paliva, zahrnující počty a historii palivových souborů, technické parametry, izotopové složení atd. Obecně obsahuje vyhořelé jaderné palivo cca 95 % ²³⁸U, 1 % ²³⁵U, 3 % štěpných produktů (dlouhodobé např. ¹³⁵Cs, ¹²⁹I, ⁹⁹Tc), 1 % transuranů (např. ²³⁹Np, ^(239,240,241,242)Pu, ^(241,243)Am, ^(244,245)Cm)⁶.

2.1. Změny v palivu během palivového cyklu

Během vyhořívání paliva v jaderném reaktoru dochází u palivových tabletek k tzv. dospěkání, což má za následek zmenšení průměru tabletek, postupně se však začíná projevat vliv napučání paliva a průměr peletek se zvětšuje v důsledku generování zejména plynných štěpných produktů. S rostoucím stupněm vyhoření dochází ke zužování mezery mezi palivem a pokrytím až ke kontaktu a zvyšování tlaku na palivové pokrytí. V důsledku působících vlivů se tabletky paliva deformují do bambusovitého tvaru⁷.

Značná část produktů vznikajících během štěpné reakce jsou plyny, například Kr, Xe, Cs, I, a ty mohou mít výrazný vliv na chování jaderného paliva. Při integrálních dávkách vznikají malé bublinky s rozměrem přibližně 65 nm. Bublinky zůstávají na dislokačních čárách, na hranice zrn se dostávají pouze ty, které se nacházejí v jejich blízkosti. Bublinky o větších rozměrech migrují na hranice zrn, kde dochází k jejich pohlcování. Při dosažení velikosti 450 nm se bubliny začnou pohybovat podél hranic zrn, vytvářejí vysoký tlak a podílí se na tvorbě sloupcovitých krystalů. Při velikostech 700 nm, teplotách vyšších než 1700 °C a za vysokého tlaku budou bubliny migrovat dále, bude docházet k vzrůstu povrchové difuze a vypařování UO₂ (cit.^{9,10}).

Za běžných podmínek během provozu reaktoru dochází ve struktuře paliva k zásadním změnám vzhledem ke značnému teplotnímu gradientu. Teploty v centru peletek se mohou pohybovat kolem 2000 K, zatímco na povrchu je teplota kolem 800 K díky chladicímu médiu vně palivových souborů. Struktura zrn paliva bude v různých oblastech peletek různá, tyto změny mají výrazný vliv na výkon paliva, tepelnou vodivost, pevnost aj.

Struktura zrna a také poréznost souvisí s teplotami, jimž je palivo vystaveno. Při relativně nízkých teplotách jsou změny ve velikostech zrn a pórovitosti v průřezu pelety malé s mírným růstem zrn ve středu. Výjimkou z tohoto tvrzení je struktura okrajové vrstvy paliva, kdy je porozita

v hloubce do několika μm několikanásobně vyšší a velikost zrn je menší než v neozářeném materiálu¹². V obvodu pelet je zvýšená hodnota vyhoření materiálů, až na dvojnásobek průměru, která je spojená s vyšším obsahem štěpných produktů, především ²³⁹Pu, a zvýšená intenzita α záření¹¹.

Během spalování paliva v reaktoru vzniká celá řada štěpných produktů a aktinidů s velmi rozdílnými rozpustnostmi v základní matici. Podle míst jejich výskytu v palivu je lze rozdělit do tří kategorií:

1. Štěpné produkty nacházející se v mezeře mezi palivem a pokrytím (Cs, I).
2. Štěpné produkty migrující k hranicím zrn paliva buď ve formě plynných štěpných produktů, nebo pevných štěpných produktů jako např. perovskity ((Ba, Sr) ZrO₃) nebo ϵ -fáze kovů (Mo, Ru, Rh, Pd, Tc).
3. Štěpné produkty a aktinidy a lanthanoidy, které jsou zadrženy v matici paliva.

Více než 90 % radionuklidů patří do třetí kategorie a předpokládá se, že jejich uvolňování z paliva se bude řídit rychlostí rozpouštění matrice oxidu uranu. Rychlost uvolňování radionuklidů druhé kategorie bude také řízena degradačními procesy matrice paliva¹³.

2.2. Změny v palivu během uložení v hlubinném úložišti

Koncepční řešení multibariérového obalu vysoceaktivního jaderného odpadu pro hlubinná úložiště počítá se zajištěním izolace radioaktivních produktů od životního prostředí po tisíce až desetitisíce let pomocí úložných obalových souborů. Fyzikálně-chemické působení prostředí hlubinných úložišť ovšem z dlouhodobého pohledu nakonec působí jejich selhání, které povede ke kontaktu vlhkosti a paliva. Vytvořením vodního filmu na povrchu paliva mohou potenciálně nastat oxidační podmínky vedoucí k degradaci paliva a uvolňování radionuklidů.

Pro případy selhání inženýrských bariér byly vytvořeny dva modely¹⁵:

IRF (frakce s okamžitým uvolněním) – pro případy náhlých krátkodobých úniků štěpných produktů z různých palivových mikrostruktur porušením v kanystru, například z hranic zrn, lemu paliva, mezery mezi palivem a pokrytím,

MAM (model modifikace matrice) – model spojený s průnikem vody, její radiolýzou a následným rozpouštěním matrice oxidu uranu.

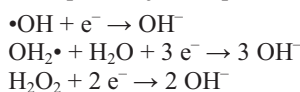
Vliv radiolýzy vody

Sledovaný kritický faktor uvolňování radionuklidů z matrice uranu bude řízen rychlostí degradace matrice samotné. Přestože je uran v palivu v tetravalentním oxidačním stavu jen velmi málo rozpustný v redukčních podmínkách vyskytujících se v úložištích, jeho rozpustnost se může významně zvýšit za přítomnosti vlhkosti. V případě kontaktu vody a vyhořelého jaderného paliva bude voda vystavena účinkům α , β a γ záření. Ovšem vzhledem k tomu, že hladiny β a γ záření klesnou na bezvýznamnou úroveň po uplynutí cca tisíce let, zatímco záření α přetrvá-

vá po mnohem delší časové období, uvádí většina studií především vliv α záření na oxidaci a rozpouštění UO_2 . α částice mohou předávat svou energii vodnímu prostředí do limitované vzdálenosti, která je odhadována na $< 45 \mu\text{m}$ od povrchu paliva¹⁶.

Vlivem radiolýzy vody vznikají na rozhraní voda/ UO_2 oxidační podmínky, které mohou urychlit rozpouštění matrice (viz obr. 2). Během radiolýzy vody vzniká soubor produktů, jako jsou radikály $\text{OH}\cdot$, $\text{OH}_2\cdot$, e_{aq}^- , $\text{H}\cdot$ nebo molekulární formy H_3O^+ , H_2 , H_2O_2 v koncentracích, které závisí na povaze a dávce záření. Dále může vznikat O_2 , což není primární radiolytický produkt, ale vzniká rekombinací primárních produktů nebo reakcemi H_2O_2 (cit.¹⁷).

Některé produkty vznikající během radiolýzy mohou v systému působit jako depolarizátory:



Některé produkty radiolýzy mohou korozi i zpomalovat, např.:



Na druhou stranu při této reakci vzniká O_2 , který působí jako depolarizátor. Obecně platí, že produkty radiolýzy většinou urychlí proces koroze kovu, ale mohou způsobit i jeho pasivaci. Dalším příkladem produktu, který může zpomalovat radiolytické procesy, je vodík vznikající při případných korozních procesech úložného obalového souboru (ÚOS).

Pro uložené jaderné palivo v dlouhodobém pohledu uvažujeme nejsilnější vliv α částic, které při radiolýze vody přednostně vytvářejí molekulární formy produktů (např. H_2O_2 , H_2 , O_2) před radikály a tyto vznikající molekuly se tvoří v blízkosti paliva. Část z nich následně reaguje s povrchem paliva oxidací U^{IV} na U^{VI} , který je mnohem více rozpustný (zejména za přítomnosti uhličitany). Ná-

sledně dojde k rozpouštění U^{VI} za účasti vodních ligandů OH^- , HCO_3^- aj. a uvolnění radionuklidů do roztoku a k tvorbě anorganických komplexů. Uran ve vodném roztoku se pak může vysrážet lokálně na povrchu paliva nebo v blízké oblasti, což závisí na redoxní rovnováze a chemii vody^{17–19}.

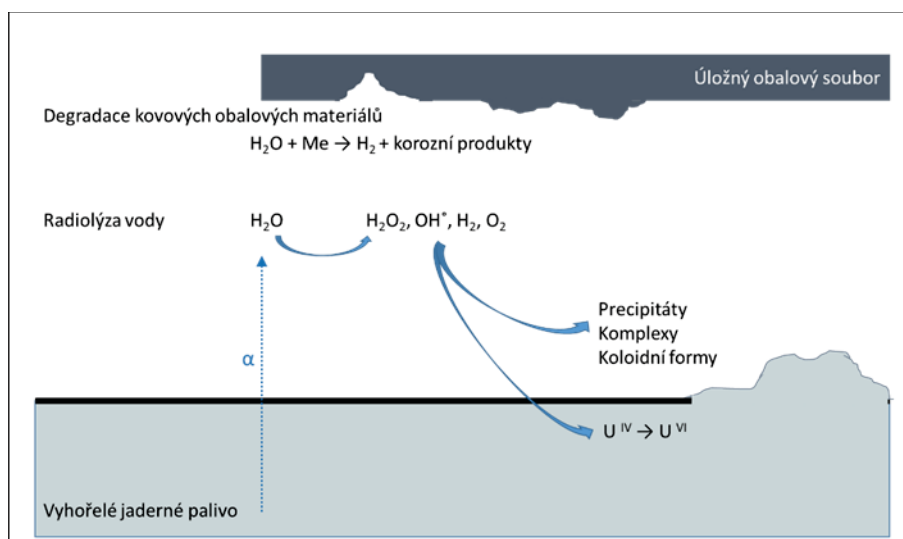
Experimentální práce prokázaly, že pro prostředí úložišť jsou ve většině případů limitujícím faktorem změn v palivu radiolýza vody a oxidace matrice UO_2 , většina současných výzkumů se proto i nadále zaměřuje na studium stupňů radiolýzy a oxidace.

Chování uloženého vyhořelého paliva bude ovlivňovat nejen proces radiolýzy vody, ale také korozní procesy ÚOS a jejich produkty a složení podzemních vod, bentonitu i okolní horniny. Může zde docházet ke vzniku komplexů, precipitací, iontovým výměnám atd. Nicméně stále není známo mnoho parametrů pro modelování vlivu těchto procesů a může být složité posoudit účinek navzájem si konkurujících procesů v podmínkách měnícího se teplotního a radiačního pole a průtoků^{17,20}.

Vliv různých parametrů prostředí na chování paliva

Hodnoty pH v prostředí většiny úložišť se pohybují v rozmezí 5 až 10, s výjimkou těch, které jsou zaplaveny solankou s obsahem Mg, kde je očekáváno $\text{pH} < 5$. Tyto hodnoty pH nebudou mít významný vliv na rychlost koroze UO_2 . Hodnota pH může ale ovlivňovat chování povrchových vrstev na palivu v určitém rozmezí potenciálů $-100 \text{ mV} \leq E \leq +300 \text{ mV}$, kdy ovlivňuje tvorbu úsad korozních a dalších složek prostředí, a tím urychluje nebo brzdí rozpouštění paliva¹³.

Předpokládá se, že uhličitany budou mít největší vliv na urychlení rozpouštěcích procesů ze všech ostatních možných složek podzemních vod. Vliv uhličitany může být kategorizován jako funkce koncentrace:



Obr. 2. Hlavní procesy snižující životnost vnitřních ploch úložného obalového souboru

1. V nepřítomnosti uhličitanu se akumulují nánosy korozních produktů a potlačují rychlost rozpouštění.
2. Nízké koncentrace $< 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$; převládající vliv uhličitanu zvyšuje rozpustnost UO_2^{2+} , což zabraňuje usazování korozních produktů.
3. Střední koncentrace 10^{-3} – $10^{-1} \text{ mol l}^{-1}$; $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$ je kineticky zapojen do procesu rozpouštění tvorbou povrchových meziproductů.
4. Vysoké koncentrace uhličitanu ve fázi, jako je UO_2CO_3 , začínají omezovat rychlost rozpouštění a reakce se stává stále méně závislou na koncentraci uhličitanu¹³.

Mezi další důležité složky patří úsady a komplexy, které zpomalují rozpouštění UO_2 podporováním tvorby usazenin korozních produktů s extrémně nízkou rozpustností. Elektrochemické experimenty ukazují, že začlenění Ca^{2+} a SiO_4^{4-} do filmu korozních produktů na povrchu vede k rychlému potlačení rozpouštění. Uvolňování radionuklidů z palivového souboru může být ve vzdálenějších polích zpomalováno sorpcí na minerální povrchy, dalším způsobem zadržování je tvorba komplexů.

Komplexy tvoří hlavně aktinidy a nenabitě radionuklidy s hydroxylovými skupinami křemíku, hliníku a oxidů železa. K sorpční kapacitě přispívají také fosforečnany a uhličitany. Proces je reverzibilní, a pokud koncentrace volných radionuklidů poklesne, mohou být z komplexů opět uvolněny²¹.

Mobilita radionuklidů

Z dlouhodobého pohledu radiotoxicity uložených radioaktivních odpadů převládá vliv aktinidů, jejichž rozpustnost je za redukčních podmínek velmi nízká, naopak sorpce na minerální povrchy je vysoká. Mezi málo rozpustné prvky v redukčním prostředí podzemních vod patří čtyřmocný uran, a proto bude jeho uvolňování pomalé. Naopak některé produkty štěpení, např. ^{99}Tc , ^{129}I , ^{237}Np , jsou za určitých podmínek rozpustné ve vodě a také se méně sorbují v horninovém prostředí, a proto jsou mobilnější než ostatní.

Geochemická mobilita U a Pu, stejně jako některých dlouhodobých štěpných produktů, jako jsou ^{79}Se a ^{99}Tc , do značné míry závisí na redoxních podmínkách a oxidačních stavech aktinidů. V podmínkách úložiště může uran existovat jako sloučenina nebo komplex v roztoku ve dvou oxidačních stavech U^{IV} nebo U^{VI} , který je mnohem více rozpustný a mobilní. Situace pro Pu je složitější, protože v přírodních vodách existují potenciálně čtyři různé oxidační stavy. Vyšší oxidační stavy lehčích aktinidů tvoří stabilní uhličitánové komplexy, které zvyšují koncentraci aktinidů v roztoku. Obecně platí, že redukce aktinidů vede k nižší rozpustnosti a zvýšené tendenci absorbovat se na minerální povrchy^{14,21}.

K transportu radionuklidů tlumivými a výplňovými materiály dojde po jejich mobilizaci z matrice odpadu. Teprve až se radionuklidy uvolní z matrice paliva, kde je mohou brzdit i vznikající vrstvy korozních produktů, a projdou materiály inženýrských bariér, mohou migrovat hostitelskou horninou. Transport uvolněných rozpouštěných radionuklidů zde může probíhat difuzí nebo advekcí, a to

pro různé radionuklidy různou rychlostí. Proto se i do kontaktu s okolním prostředím budou transportovat postupně, podle doby migrace těmito bariérami. Například mobilní radionuklidy ^{36}Cl se mohou objevit za několik desítek tisíců let, zatímco méně mobilní radionuklidy, např. ^{237}Np , za mnohem delší dobu²¹.

3. Závěr

Keramické pelety paliva UO_2 se během palivového cyklu vlivem vyhořívání mění, a to jak mírou vyhoření paliva, tak i rozložením a působením vznikajících produktů štěpení. Stav paliva na konci palivového cyklu po vyjmutí z reaktoru může mít vliv i na životnost paliva během uložení v hlubinném úložišti. Značná část produktů vznikajících v palivu jsou plyny, např. Kr a Xe, které způsobují zvyšování tlaků v palivovém proutku a dochází k deformaci peletek. Bublínky plynů, ale i další štěpné produkty mohou zůstávat ve struktuře UO_2 , ale také mohou migrovat po hranicích zrn a napomáhat tak krystalovým změnám paliva. Dále dochází k vytvoření specifické okrajové vrstvy peletek a k napučání paliva. Způsob vázání a rozložení štěpných produktů bude mít vliv i na možné uvolňování radionuklidů z paliva během uložení.

V případě selhání ostatních bariér úložného obalového souboru dochází k rychlému úniku plynů a štěpných produktů nahromaděných v mezeře palivo-pokrytí, v okrajové vrstvě paliva a hranicích zrn v další dlouhodobější fázi bude docházet k degradaci a korozi matrice UO_2 . V této druhé fázi bude rychlost uvolňování radionuklidů řízena rychlostí degradace matrice, přičemž uran samotný ve formě U^{IV} je jen velmi málo rozpustný v redukčních podmínkách úložiště. Změna podmínek ovšem nastává při selhání ochranných bariér a vniknutí vody k palivu. Především vlivem α záření dochází k radiolýze vody. Produkty radiolýzy vody mění redoxní podmínky systému, podílí se na rozpouštění vyhořelého paliva a dochází k uvolňování radionuklidů do prostředí. Vliv pH v prostředích hlubinných úložišť se nepovažuje za významný, ale může ovlivňovat chování úsad a korozních produktů. Korozní produkty, vznikající komplexy a další úsady pocházející z degradace paliva, inženýrských bariér nebo z podzemních vod mohou zpomalovat rozpouštění paliva tvorbou mechanické bariéry a tím zpomalení difuzních procesů. Po uvolnění radionuklidů z matrice paliva dochází k migraci prostředím, která může být ovlivňována sorpcí na minerální povrchy.

Pro bezpečnost hlubinného ukládání bude zásadní chování jednotlivých vrstev úložného obalového souboru. Nezanedbatelným faktorem bude tudíž i struktura pelet paliva a jejich vliv na integritu nejbližší ochranné vrstvy, tj. povlakových trubek.

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. A1 FTOP_2021_004). Prezentované výsledky byly dále finančně podpořeny Státním úřadem pro jadernou bezpečnost v rámci projektu „Vývoj hlubinného úložiště“, zakázka SÚJB č. j. SÚJB/

ONRV/7849/2015 a Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy – projekt LQ1603 Výzkum pro SUSEN (Práce byla realizována na velké infrastruktuře Udržitelná energetika SUSEN vybudované v rámci projektu CZ.1.05/2.1.00/03.0108 a CZ.02.1.01/0.0/0.0/15_008/0000293).

Seznam zkratek

| | |
|------|--|
| SKB | švédská společnost odpovídající za stavbu hlubinného úložiště (Svensk Kärnbränslehantering AB) |
| EDU | elektrárna Dukovany |
| VVER | vodo-vodní energetický reaktor |
| MWe | megawatt elektrický |
| PCMI | mechanická interakce pelet a pokrytí paliva (Pellet-Cladding Mechanical Interaction) |
| IRF | frakce s okamžitým uvolněním (Instant Release Fraction) |
| MAM | model modifikace matrice (Matrix Alteration Model) |
| ÚOS | úložný obalový soubor |

LITERATURA

1. Svensk Kärnbränslehantering AB: *Äspö Hard Rock Laboratory Annual Report 2019* (Švédsko), <http://www.skb.com>, staženo 6. 8. 2021.
2. České jaderné fórum: *Bulletin 4/2015* (Česká republika), str. 1.
3. <http://www.worldnuclear.org>, staženo 14. 10. 2016.
4. <http://atominfo.cz>, staženo 20. 7. 2020.
5. Smetana J.: *Jaderná paliva pro tlakovodní jaderné reaktory*. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně. Brno 2014.
6. Kříž Z.: *Vývoj hlubinného úložiště. Výzkumná zpráva*. Centrum výzkumu Řež s.r.o., Praha 2015.
7. Burket D.: *Palivové vsázky se zdokonaleným palivem na Jaderné elektrárně Dukovany*. Disertační práce. České vysoké učení technické v Praze, Praha 2003.
8. Chichester H.: *The 2012 NanoNuclear Workshop, 27 February 2012, Houston, Texas*, plenární přednáška.
9. <http://www.hhallberg.com>, staženo 10. 11. 2015.
10. Kursa M., Szurman I.: *Materiály pro jadernou techniku*. Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava, Ostrava 2013.
11. Hedin A.: *Fuel and canister process report for the safety assessment SR-Site*. Technical report. Svensk Kärnbränslehantering AB, Stockholm 2010.
12. Osuský F., Haščík J.: *Fr-Cz-Sk Winter Seminar 2016, 8–12 February 2016, Železná Ruda, Czech Republic*, plenární přednáška.
13. Shoesmith D. W.: J. Nucl. Mater. 282, 1 (2000).
14. Ewing R. C.: Nat. Mater. 14, 252 (2015).
15. Nagra: *Technical Report 04-09: Spent Fuel Evolution under Disposal Conditions 2005 (Switzerland)*, str. 7. <https://inis.iaea.org>, staženo 6. 8. 2021.
16. Eriksen T. E., Shoesmith D. W., Jonsson M.: J. Nucl. Mater. 420, 409 (2012).
17. Poinssot C., Ferry C., Lovera P., Jegou C., Gras J. M.: J. Nucl. Mater. 346, 66 (2005).
18. Klimek S.: *Stanovení životnosti úložného kontejneru z uhlíkové oceli*. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Brno 2009.
19. IAEA. (2003b): *Scientific and Technological Basis for the Geological Disposal of Radioactive Wastes*. Vienna, Austria 2003.
20. Bruno J., Ewing R. C.: Elements (Chantilly, VA, U. S.) 2, 343 (2006).
21. Ramešová L.: *Migrace radionuklidů z úložišť radioaktivního odpadu a jejich možné dopady na životní prostředí*. Bakalářská práce. Univerzita Karlova, Praha 2011.

J. Rejková^a, J. Macák^a, and L. Nachmilner^b
^a Department of Power Engineering, University of Chemistry and Technology, Prague, ^b Research Centre Řež):
The Waste Disposal Package for Spent Nuclear Fuel

A key issue in the safety of spent nuclear fuel storage is the lifetime and effectiveness of barriers isolating the radioactive waste from the environment. In the event of a failure of the waste disposal package, the condition of the fuel pellets and the impact on their immediate surroundings will be an important factor. The goal of this review article is to summarize the state and changes of nuclear fuel at the end of the fuel cycle and the influence of the parameters of the deep repository environment on the corrosion processes of the engineered barriers and on the release of radionuclides during storage.

Keywords: deep repository, nuclear fuel, UO₂ pellet

- Rejková J., Macák J., Nachmilner L.: Chem. Listy 116, 110–114 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220110>

Acknowledgements

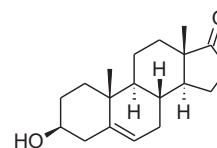
This work was supported by grants from the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (Project LQ1603 „Research for SUSEN“, Grant numbers: CZ.1.05/2.1.00/03.0108, CZ.02.1.01/0.0/0.0/15_008/0000293), and from the grant of Specific university research (Grant number: A1_FTOP_2021_004). Special thanks go to the State Office for Nuclear Safety (Project: SÚJB/ONRV/7849/2015).

O HORMONU MLÁDÍ

MICHAL JURÁŠEK^a, LUBOSLAV STÁRKA^b
a PAVEL DRAŠAR^a

^a Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6,

^b Endokrinnologický ústav, Národní 8, 116 94 Praha 1
michal.jurasek@gmail.com, drasarp@vscht.cz,
lstarka@endo.cz



DHEA

Došlo 9.8.21, přijato 25.8.21.

Klíčová slova: DHEA, prasteron, hormon mládí, well-being, doping

● <https://doi.org/10.54779/chl20220115>

Kolem nás je mnoho sekundárních metabolitů, které mají podstatný (ať již pozitivní, nebo negativní) vliv na zdraví lidí, zvířat i rostlin. Tento časopis se jich dotýká ve svých přehledových článcích poměrně často, protože redakce zastává názor, že je nutno bojovat proti vzrůstajícímu (zejména internetovému) tmářství, které tuto oblast zkaluje mnoha bláboly, jako například o „bílé zlu“ cukrů, octa, soli, mouky a tak podobně, a které šíří škodlivé nepravdy jako například, že „bílý destilovaný ocet a vinný ocet (ve kterých je převládající substancí „kyselina acetonová“) ... vzniká kvašením kyselých alkoholických tekutin“ (cit.¹). Tudíž tento článek volně navazuje na články o chutích a barvách^{2,3}, alkaloidech⁴, konopí⁵, kofeinu⁶ apod. proto, aby se veřejnosti dostalo rozumných informací.

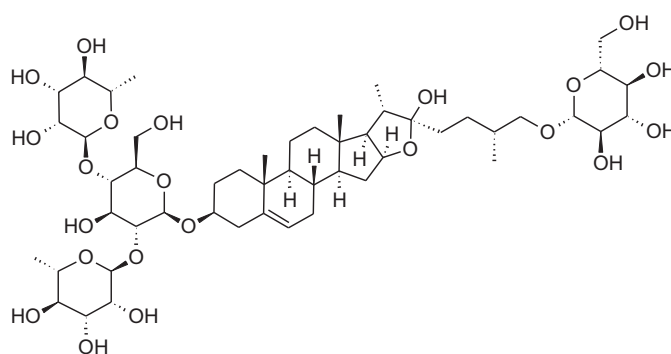
Titulní sloučenina zvaná DHEA je chemicky (3 β)-3-hydroxyandrost-5-en-17-on, známý také pod pojmenováními jako 17-chetovis, 17-hormoforin, 3 β -hydroxy- Δ^5 -androst-17-on(e), androst-17-on(e), astenil(e), dehydroepiandrosteron(e) (DHEA, též DHA), deandros, dehydroisoandrosteron(e), diandron(e), EM 760, GL 701, IM 28, immunor, intrarosa, NSC 9896, prasteron(e), psicosteron(e), siscelar plus, *trans*-dehydroandrosteron(e) (TDA), Δ^5 -androst-3 β -ol-17-on(e). DHEA je látkou, která je známá i pod označením „hormon mládí“ (ale i jako „matka hormonů“, „zázračná pilulka“, „pramen mládí“, či „protilátka proti stárnutí“⁷) buď sama, nebo v konjugované formě svého esteru s kyselinou sírovou (DHEAS)^{8,9}, jehož hladina je v organismu mnohem vyšší. Hormonem mládí byla nazvána, protože mezi 20. až 30. rokem lidského života začne jeho hladina rapidně klesat¹⁰, a protože jeho suplementace u starších lidí přinesla nejen zlepšení sexuálních funkcí, ale i snížení výskytu depresí a obav, spolu se zlepšením pocitu „well-being“^{11,12}, i když se vyskytly i hlasy, které

s výše popsaným nesouhlasí¹³. Bohužel lze nalézt použití zkratky DHEA i pro jiné sloučeniny, jako např. dokosaheptaenyl-ethanolamin (2-amino-1-hydroxytetrakosa-4,6,8,10,12,14-hexaen-3-on) a zkratku DHA pro dokosahexaenovou kyselinu, přičemž obě látky rovněž působí na CNS a jsou zkoumány v souvislosti s endokannabinoidy¹⁴.

Není divu, že si u DHEA příroda vybrala konjugovanou formu, protože zatímco DHEA má $\log P = 3,44$, odpovídající sulfát DHEAS má $\log P = 1,94$, z čehož plyne mnohem lepší rozpustnost ve vodě, a tím i biodostupnost¹⁵. Tělo si tento steroid vyrobí z cholesterolu (cholesterol \rightarrow pregnenolon \rightarrow 17-OH-pregnenolon \rightarrow DHEA) a je vylučován v kůře nadledvin¹⁶. Jako steroidní hormon hraje důležitou roli nepřímého meziproductu na metabolické cestě k androgenům a estrogenům. Muži získávají z DHEA 50 % svého testosteronu a ženy 75 % svého estrogenu, u postmenopauzálních žen dokonce 100 % estrogenu. Je zajímavé, že DHEA nevykazuje typické anaboličké vlastnosti, i když je za androgenní anabolikum považován; v této souvislosti stojí za připomínku, že zvýšený poměr kortisolu k DHEAS v séru může být rizikovým faktorem vzniku sarkopenie (typ ztráty svalové hmoty) u starších pacientů s diabetem¹⁷. Existují však i studie, ve kterých je popisováno snižování růstu celkové váhy při obezitě¹⁸. DHEA zlepšuje celkově metabolismus cukrů a dokonce snižuje oxidativní stres způsobený cukrovkou¹⁹. DHEA snižuje LDL, takže se zdá být v této oblasti vhodným sparingpartnerem 24-epibrassinolidu²⁰.

Na základě známých imunomodulačních vlastností DHEA proběhl výzkum jeho použití při autoimunitních onemocněních, jako systémový *lupus erythematoses*²¹. Imunomodulační a protizánětlivé působení DHEA bylo zkoumáno i v procesu léčení astma a dalších chorob, jako Crohnovy nemoci a ulcerózní kolitidy a dalších²². Celkově DHEA podporuje imunitu organismu. Lidé nakažení HIV mají velmi nízké úrovně koncentrace DHEA (cit.²³). Studie ukazují, že muži i ženy nakažení HIV po podání DHEA vykazovali lepší mentální funkce a zvýšení imunity²⁴. DHEA může blokovat reaktivaci choroby, zejména u HIV-1.

Snížení koncentrace DHEA (o cca 2 % ročně) vede nakonec k blokování arterií srdce a k infarktu myokardu, zejména u mužů²⁵. Doplnění DHEA snižuje stupeň hyper-



protodioscin

tenze, nebezpečí ischemické choroby srdeční a aterosklerózy. Důkazy pro inverzní vztah mezi hladinou DHEA a kardiovaskulárním rizikem jsou poměrně silné²⁶. Jsou též důkazy o příznivém působení DHEA na hlavní onemocnění plicního oběhu – plicní hypertenzi²⁷. Vyskytly se i práce, které doporučují zkoumání vlivu DHEA na onemocnění COVID-19 (cit.²⁸).

DHEA může zlepšit minerální hustotu kostí u žen i mužů s osteoporózou a osteopenií²⁹. Existuje mnoho studií, které ukazují pozitivní působení DHEA proti „stárnutí“. Již citované snižování koncentrace DHEA s věkem vede k vyšší incidenci vážných nemocí. Udržování úrovně koncentrace DHEA má vliv na celkový obraz pacienta, přispívá i k udržení svalové aktivity a fyzické výkonnosti. Studie na hlodavcích ukázala, že DHEA může prodloužit život až o 50 %, pokusné objekty vypadají mladě a nešediví^{30,31}.

Je pravděpodobné, že po menopauze DHEA může napomáhat udržení koncentrace žadoucích steroidů. Může usnadnit oplodnění, zlepšit sexuální funkce, metabolismus a „well-being“. Suplementace DHEA se ukázala být užitečná při zvládání posttraumatických stavů a zlepšení abstinence u závislostí. Byly nalezeny efekty DHEAS jako anxiolytika a prostředku tlumícího agrese. Celkově DHEA (S) přispívá k podpoře „well-being“ a k pozitivním emocím, případně ke zvýšení pozornosti a celkové pracovní paměti^{32–34}.

Zdá se, že může snížit výskyt rakoviny prsu³⁵ a endometria, nicméně zde se doporučuje administrace DHEA ruku v ruce s lékařem, protože existuje nebezpečí hormon-senzitivních nádorů³⁶, které je však i zlehčováno³⁷.

Bylo prokázáno, že suplementace DHEA u mužů s poruchou erekce způsobila zlepšení erekce na dostatečnou úroveň³⁸. DHEA dokonce zlepšuje kvalitu semene u mužů s poruchou fertility³⁹.

Obecně je DHEA důležitý v endokrinologii a neuroendokrinologii. Mnoho receptorů je aktivováno DHEA, často však na rozdílných úrovních než běžné ligandy. DHEA je důležitým regulačním nástrojem pro řadu mozkových funkcí. Působí jako ligand na některých signálních kanálech⁴⁰ a je mozkovou tkání přímo produkován. Tato zjištění ukazují na širokou škálu aktivit připisovaných DHEA⁴¹. Lékaři a endokrinologové u nás dlouho bojovali

o možnost použití DHEA pro jeho mnohočetnou biologickou aktivitu, leč stále naráželi na překážku, že tato látka i její deriváty (7 α -hydroxy-DHEA, 7 β -hydroxy-DHEA a 7-keto-DHEA) jsou dodnes považovány za anabolické androgenní steroidy, doping⁴² a u nás navíc tato látka nebyla k dispozici⁴³. Dnes se volně prodává, jako doplněk stravy např. v Maďarsku a na Slovensku. I v literatuře se však dočteme o anabolickém působení DHEA při sarkopenii⁴⁴ a anorexii⁴⁵.

Naše sféra „čistého“ sportu se spoléhá na informaci, že ze steroidního glykosidu protodioscinu (z kotvičnicku zemního (*Tribulus terrestris*), zřejmě dovezeného jako extrakt z Číny a prodávaného i v lékárnách jako prostředek pro zlepšení naší pohlavní kondice, výkonnosti a zdravou hormonální aktivitu) si DHEA organismus vyrobí sám. Vzhledem ke struktuře o tom lze velmi pochybovat.

Nicméně přípravek Intrarosa, který obsahuje jako léčivou látku DHEA, získal kladné stanovisko EMA v roce 2017 jako léčivý přípravek používaný k léčbě postmenopauzálních žen se středně závažnými až závažnými příznaky vulvální a vaginální atrofie. U žen s vulvální a vaginální atrofii se stěna pochvy a okolní tkáně ztenčí a mohou způsobit příznaky, jako je suchost, podráždění a bolestivost v oblasti genitálií a bolestivý pohlavní styk. Bylo prokázáno, že přípravek Intrarosa zlepšuje strukturu vaginálních tkání a má mírný tlumící účinek na bolest při pohlavním styku a má přijatelný bezpečnostní profil⁴⁶. Používá se jako vaginální kulička a u nás je na lékařský předpis. SÚKL o jeho dostupnosti v ČR nemá informace⁴⁷.

V české „šedé“ literatuře se traduje názor, že se DHEA přetváří v organismu na testosteron, což potvrzovali muži, kteří delší dobu skoro tajně užívali DHEA či DHEAS. Byli to většinou experimentátoři, kteří příznivě hodnotili libido a erekci, ale také vzrůst tělesné síly a mentálních schopností, včetně zlepšení paměti⁴³; avšak nadbytek mužských pohlavních hormonů se dává i do souvislosti s některými zhoubnými nemocemi, například s nádory prostaty u mužů⁴⁸. EMA však uvádí, že nejběžnějším vedlejším účinkem přípravku Intrarosa (který může postihnout až 1 z 10 žen) je vaginální výtok. Přípravek Intrarosa se nesmí používat u pacientů s následujícími stavy: krvácení z pohlavních orgánů, u nichž nebyla diagnostikována příčina, diagnóza nebo podezření na rakovinu prsu nebo

rakovinu závislou na estrogeneru, předchází rakovina prsu, neléčená hyperplazie endometria (zesílení děložní sliznice), akutní (krátkodobé) onemocnění jater, předchází onemocnění jater, kde jsou jaterní funkční testy stále abnormální, předchází nebo současný žilní tromboembolismus (tvorba krevních sraženin v žilách), trombofilní poruchy (abnormální srážení krve), aktivní nebo nedávné arteriální tromboembolické onemocnění (způsobené krevními sraženinami v tepnách), porfyrie (neschopnost rozkládat chemické látky zvané porfyryny).

S látkami, jako je DHEA, se setkáváme ve vědeckém bádání, sportovní medicíně, ale i na trhu šedé ekonomiky⁴⁹. Je proto užitečné o nich vědět nejméně to, co udává současná odborná literatura.

LITERATURA

1. <https://www.zdravinadlani.cz/nase-strava/ocet>, staženo 22. 6. 2021.
2. Drašar P.: Chem. Listy 110, 276 (2016).
3. Červenčík K., Bírošová L., Žemlička L.: Chem. Listy 114, 437 (2020).
4. Nesměrák K., Kudláček K., Kozlík P., Štícha M., Vašíčková P., Babica J.: Chem. Listy 114, 52 (2020).
5. Kaczorová D., Béres T., Čavar Zeljković S., Bjelková M., Kuchař M., Tarkowski P.: Chem. Listy 114, 277 (2020).
6. Kobetičová K.: Chem. Listy 114, 614 (2021).
7. Sahu P., Gidwani B., Dhongade H. J.: Steroids 153, 108507 (2020).
8. Chehab O., Ouertani M., Chaieb K., Haoual F., Mahdouani K.: C. R. Biol. 330, 755 (2007).
9. Stárka I.: Interní Med. 14, 257 (2012).
10. Matsumoto A. M.: J. Gerontol. Ser. A 57, 76 (2002).
11. Verrilli L., Esposito-Smith M., Williams M., v knize: *Challenges in Older Women's Health*. (Brown H. W., Williams M., Schrager S., ed.), str. 185. Springer, Cham 2021.
12. Li J., Zhang Q., Wang Q., Zhou L., Wan X., Zeng X.: Sleep Biol. Rhythms 19, 155 (2021).
13. Urbanski H. F., v knize: *Assessments, Treatments and Modeling in Aging and Neurological Disease* (Martin C. R., Preedy V. R., Rajendram R., ed.), str. 269. Academic Press, London 2021.
14. Muscaritoli M.: Front. Nutr. 8, 97 (2021).
15. ACD/Labs: Percepta, Toronto, release 2020.2.0 (2021).
16. Klinge C. M., Clark B. J., Prough R. A.: Vitam. Horm. (London, U. K.) 108, 1 (2018).
17. Yanagita I. a 19 spoluautorů: J. Endocr. Soc. 3, 801 (2019).
18. Wu H. Q., Masset-Brown J., Tweedie D. J., Milewich L., Frenkel R. A., Martin-Wixtrom C., Estabrook R. W., Milewich L.: Cancer Res. 49, 2337 (1989).
19. Brignardello E., Runzo C., Aragno M., Catalano M. G., Cassader M., Perin P. C., Boccuzzi G.: Diab. Care 30, 2922 (2007).
20. Khripach V., Altsivanovich K., Zhabinskii V., Samusevich M.: US6998397B2 (2004).
21. Van Vollenhoven R. F., Park J. L., Genovese M. C., West J. P., McGuire J. L.: Lupus 8, 181 (1999).
22. De la Torre B., Hedman M., Befrits R.: Clin. Exp. Rheumatol. 16, 579 (1998).
23. Centurelli M. A., Abate M. A.: Ann. Pharmacother. 31, 639 (1997).
24. Mulder J. W., Jos Frissen P. H., Krijnen P., Ender E., De Wolf F., Goudsmit J., Masterson J. G., Lange J. M. A.: J. Infect. Dis. 165, 413 (1992).
25. Jia X. M. a 18 spoluautorů: J. Clin. Endocrinol. Metab. 105, dgaa518 (2020).
26. Samaras N., Samaras D., Frangos E., Forster A., Philippe J.: Rejuvenation Res. 16, 285 (2013).
27. Savineau J. P., Marthan R., de la Roque E. D.: Biochem. Pharmacol. 85, 718 (2013).
28. Cherniske S.: Academia Letters 2021, July, Article 1787.
29. Huang K., Cai H.-L., Bao J.-P., Wu L.-D.: Ageing Res. Rev. 62, 101132 (2020).
30. <https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/toc/17496632/1995/774/1>, staženo 22. 6. 2021.
31. Barnhart K. T., Freeman E., Grisso J. A.: J. Clin. Endocrinol. Metab. 84, 3896 (1999).
32. do Vale S., Escera C.: Vitam. Horm. (London, U. K.) 108, 413 (2018).
33. Wemm S., Koone T., Blough E., Mewaldt S., Bardi M.: Biol. Psychol. 85, 53 (2010).
34. Barrett-Connor E., Edelstein S. L.: J. Am. Geriatr. Soc. 42, 420 (1994).
35. Li S., Yan X., Bélanger A., Labrie F.: Breast Cancer Res. Treat. 29, 20 (1993).
36. Labrie F., Luu-The V., Labrie C., Bélanger A., Simard J., Lin S.-X., Pelletier G.: Endocr. Rev. 24, 152 (2003).
37. Labrie F., Luu-The V., Bélanger A., Lin S. X., Simard J., Pelletier G., Labrie C.: J. Endocrinol. 187, 169 (2005).
38. Reiter W. J., Pycha A., Schatzl G., Pokorny A., Gruber D. M., Huber J. C., Marberger M.: Urology 53, 590 (1999).
39. El-Sakka A. I., ve sborníku *DHEA in Human Health and Aging Conference*, (Watson, Ronald Ross, ed.), str. 351. CRC Press, Boca Raton 2012.
40. Hill M., Dušková M., Stárka L.: J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 145, 293 (2015).
41. Clark B. J., Prough R. A., Klinge C. M.: Vitam. Horm. (London, U. K.) 108, 29 (2018).
42. Světový antidopingový kodex, Mezinárodní standard, Seznam zakázaných látek 2021, World anti-doping agency a Antidopingový výbor ČR, Praha 2021.
43. Šonka J.: Vesmír 75, 305 (1996).
44. Foss R., Casaburi R., Storer T. W., Bhasin S.: Baillière's Clin. Endocrinol. Metab. 12, 365 (1998).
45. Bloch M., Ish-Shalom S., Greenman Y., Klein E., Latzer Y.: Psychiatry Res. 200, 544 (2012).
46. https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/intrarosa-epar-summary-public_cs.pdf, staženo 21. 6. 2021.
47. <https://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?>

- code=0222763&tab=available, staženo 14. 7. 2021.
48. https://www.idnes.cz/onadnes/zdravi/je-hormon-vecneho-mladi-bezpecny.A050121_202043_zdravi_pol, staženo 21. 6. 2021.
49. <https://www.vitaminnatural.com/cs/dhea-7keto-105>, staženo 21. 6. 2021.

M. Jurášek^a, L. Stárka^b, and P. Drašar^a (^a *Institute of Natural Chemistry, University of Chemical Technology, Prague*, ^b *Institute of Endocrinology, Prague*): **About the Hormone of Youth**

DHEA, prasterone, (3 β)-3-hydroxyandrost-5-en-17-one, is a natural secondary metabolite that is, mainly in its sulphated form, present in young humans. After the age of 30 its concentration gradually lowers. When it is supplemented to the elderly people, their well-being and sexual functions grow up together with mental capacity. Alternatively, it may help to cure number of diseases. However, as it is considered to be anabolic androgen, i.e., doping, its use is in the Czech Republic limited on the medical prescription only.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: DHEA, prasterone, hormone of youth, well-being, doping

- Jurášek M., Stárka L., Drašar P.: Chem. Listy 116, 115–118 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220115>

VYUŽITÍ NANOČÁSTIC STŘÍBRA PŘI ÚPRAVĚ, ČIŠTĚNÍ A RECYKLACI VOD

PAVLÍNA ČIHÁKOVÁ, JANA ZUZÁKOVÁ a JANA ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ

Ústav technologie vody a prostředí, Fakulta technologie ochrany prostředí, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
 cihak.pavlina@gmail.com, jana.zuzakova@vscht.cz, jana.ambrozova@vscht.cz

Došlo 9.8.21, přijato 12.10.21.

Klíčová slova: stříbro, nanočástice stříbra, AgNP, ionty stříbra, organismy, úprava vody, čištění odpadních vod, nitrifikace

• <https://doi.org/10.54779/chl20220119>

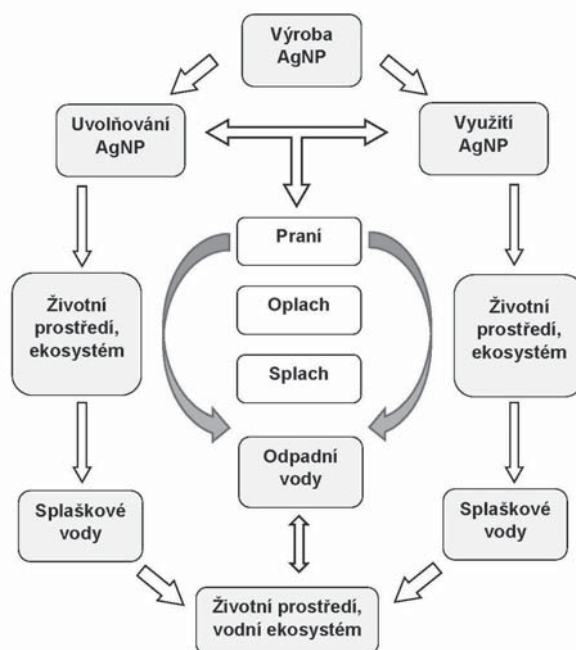
Obsah

1. Úvod
2. Využití nanočástic stříbra v systémech úpravy a recyklace vody
3. Přítomnost nanočástic stříbra v systémech odpadních vod
4. Závěr

1. Úvod

V přehledném referátu o potenciálně negativním dopadu dlouhodobého používání nanočástic stříbra¹ (AgNP) byly zmíněny dosavadní poznatky o jejich působení na prokaryotické a eukaryotické mikroorganismy, na jednotlivé buňky, populace a společenstva vodního prostředí. V tomto navazujícím referátu se pozornost zaměřuje na možnosti využití AgNP při úpravě a recyklaci vody a případně i jejich negativním dopadem na úspěšnost procesu čištění odpadních vod.

Frekventované používání AgNP v širokém spektru aplikací může přinášet určitá ekologická rizika (viz obr. 1). Reálné riziko představuje stříbro a AgNP, které se uvolňují z povrchů, materiálů, přípravků, aplikací apod. a dostávají se spolu s odpadní vodou do čistírenských zařízení a dále do recipientů. Vzhledem k antimikrobiálním vlastnostem stříbra existuje reálný předpoklad, že by AgNP mohly ovlivňovat funkčnost čistírenského procesu. Tento předpoklad se týká zejména citlivého biochemického procesu v aktivačních nádržích, biocenózy aktivovaného kalu a procesu nitrifikace, tzn. biochemické aktivity nitrifikačních bakterií. V odstraňování stříbrných iontů jsou čistírny odpadních vod poměrně účinné. Více než 90 % stříbra se zachytí v kalu, který se tak stává rezervoárem stříbra. Vzhledem k tomu, že kal z čistírny může být následně využit v zemědělství (s ohledem na platné legislativní



Obr. 1. Mechanismus koloběhu AgNP v životním prostředí

předpisy v České republice dané zákonem o odpadech č. 541/2020 Sb.) a v krajním případě může být skládkován, měla by mu být věnována zvýšená pozornost. Před aplikací kalu v zemědělství je nutná jeho úprava, která zahrnuje hygienizaci i odstranění vybraných polutantů. Přestože se v rámci kontroly obsahu rizikových látek zjišťuje obsah těžkých kovů, např. arsenu, rtuti, kadmia nebo chromu, obsah stříbra není vůbec sledován².

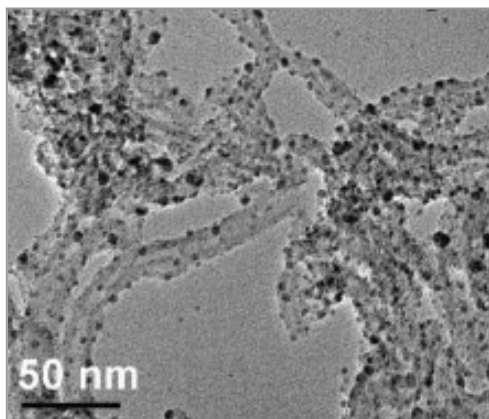
2. Využití nanočástic stříbra v systémech úpravy a recyklace vody

Nanotechnologie by mohly přinést řešení problémů technologických procesů spojených s odstraňováním problematických kontaminantů z vody a umožnit tak lidem snadnější přístup k pitné vodě³. V současné době je klíčový světový nedostatek pitné vody, zejména v rozvojových zemích se s nedostatkem potýká téměř 1 miliarda lidí. Proto stále více stoupá potřeba alternativních vodních zdrojů a možnost opětovného využití odpadních vod, a to zejména pro oblasti s nedostatkem vody^{4,5}. Zdroje a množství pitné vody jsou v posledních letech také ovlivněny klimatickými změnami, proto obavy vzrůstají nejen kvůli úbytkům zdrojů vody, ale rovněž kvůli zhoršující se kvalitě vody. Kvalita vody závisí významně na hospodaření v dané oblasti. Nadměrné hnojení anebo nešetrné obdělávání zemědělské půdy vede k vyšší eutrofizaci vod s negativním dopadem na vodní ekosystém. Mezi nejproblematictější kontaminanty vody patří halogenované organické látky, kovy, pesticidy a patogení organismy⁴. Konvenční technologie na úpravu vody zahrnují chemickou úpravu, odsolení, filtraci a jako poslední stupeň dezinfekci vody (chlorace, ozonizace, UV záření). Běžně používané chemické dezinfekční prostředky ve vodárenství, jako je například volný chlor, chloraminy a ozon, mohou reagovat s různými složkami ve vodě a vytvářet škodlivé vedlejší produkty, kterými jsou např. trihalomethany nebo haloge-

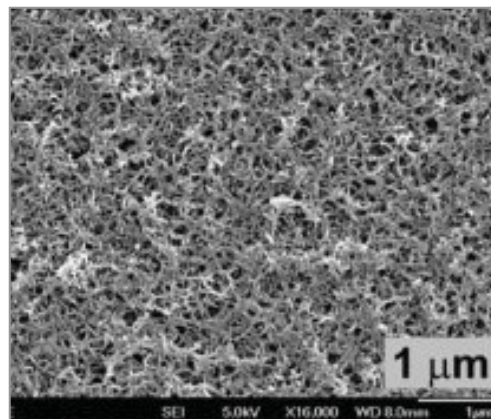
noctová kyselina, z nichž mnohé jsou karcinogeny. Někteří patogení prvoci, jako je např. *Cryptosporidium* či *Giardia*, jsou vůči běžným chemickým dezinfekčním prostředkům a povoleným dávkám rezistentní. Dezinfekce vody pak vyžaduje extrémně vysoké dávkování dezinfekčních prostředků, což zvyšuje tvorbu karcinogenních vedlejších produktů⁶. Pokud jde o ekonomickou návratnost v technologii výroby a úpravy vody, o provozní náklady a údržbu objektů, jsou současné používané technologie chemické dezinfekce vody poměrně nákladné⁷. Proto je potřeba zajistit efektivní a ekonomicky výhodnou technologii pro šetrnější zajištění úpravy vody⁴, které by mohly najít uplatnění také při nouzovém řešení některých havarijních situací⁵. Určité řešení nabízí nanočástice stříbra. Nanočástice by mohly být naneseny na vhodné substrátech (podkladech), jako jsou např. různé typy membrán a filtrů, které se nejčastěji skládají z uhlíkových nanotrubic, nanoporézní keramiky, magnetických nanočástic a dalších jiných nanomateriálů³. Příklad vzhledu membrány modifikované nanočásticemi stříbra je patrný z obr. 2. Při přípravě této membrány byly nanočástice stříbra aplikovány přímo na povrch vícevrstvých uhlíkových nanotrubic, které se následně jednoduchou filtrací zavedly na povrch dutého vlákna z polyakrylonitrilu. Takto připravená membrána vykazovala výborné antimikrobiální vlastnosti spojené s jejím pomalejším zanášením⁸. Výhodou při využití nanočástic je, že dochází pouze k jejich minimálnímu vylučování do životního prostředí, k nižší ztrátě jejich účinnosti a snadné separovatelnosti ze substrátu⁹. V případě AgNP je nutné přihlídnout k limitům přípustné koncentrace stříbra v pitné vodě, a proto je důležité najít nové mechanismy zabráňující případnému uvolňování stříbra během procesu úpravy vody.

AgNP jsou v současné době testovány v řadě experimentálních systémů jako alternativní využití v úpravě vody za účelem snížení dávkování chloru v systémech zásobování pitnou vodou¹⁰. Ionty stříbra v mnoha případech synergicky zvyšují účinnosti dezinfekce vody chlorem,

a



b



Obr. 2. TEM snímek vícevrstvých uhlíkových nanotrubic s navázanými AgNP (a) a SEM snímek jimi potaženého povrchu membrány z dutých vláken o dávce $1,45 \text{ g m}^{-2}$ (b) (cit.⁸)

chloraminy atd. Oxidační činidlo (chlor, chloramin atd.) naruší buněčnou stěnu a ovlivní tak penetraci iontů do buňky, kde následně dojde k ireverzibilní reakci s molekulou DNA. Další vysvětlení nabízí možné vysrážení stříbra v podobě AgCl při vyšších koncentracích chloru, což zvyšuje citlivost bakterií na stříbro¹¹. V aplikacích souvisejících s dezinfekcí a hygienickou nezávadností pitné vody je stříbro nejčastěji používáno v domácích vodních filtrech, ve kterých slouží pro snížení úrovně růstu biofilmu ve filtru. Spolu s mědí se stříbro všeobecně používá v systémech distribuce teplé vody v nemocničních zařízeních jako preventivní opatření proti kolonizaci bakterií rodu *Legionella*¹⁰.

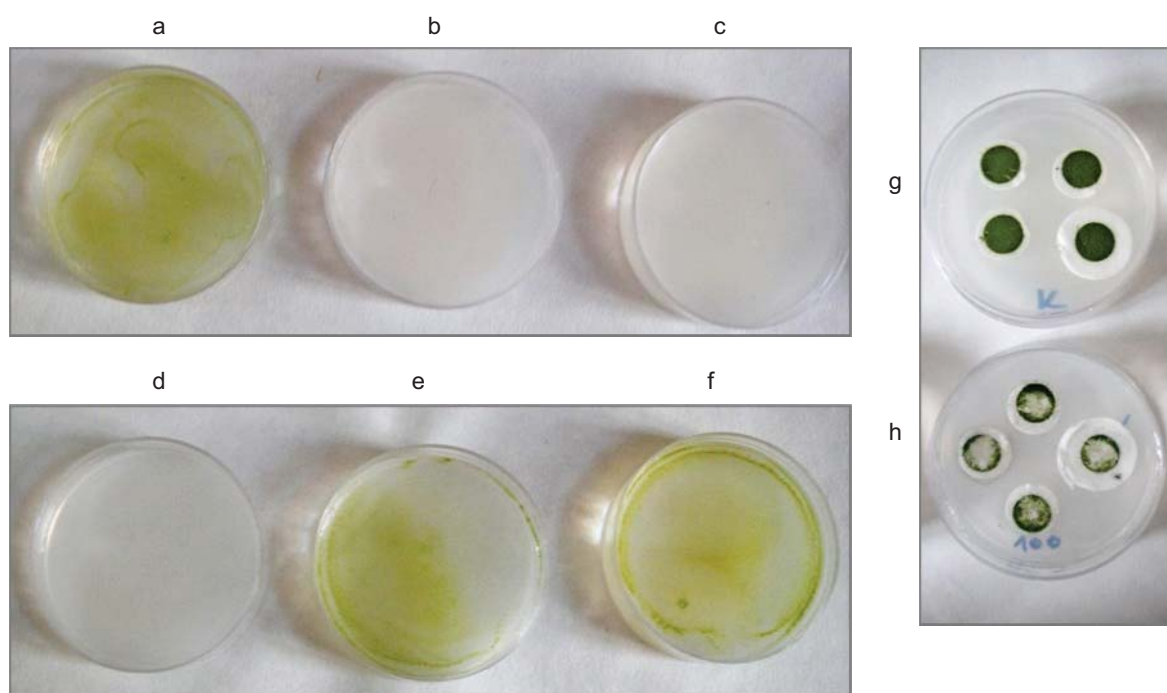
AgNP byly již několikrát úspěšně využity při dezinfekci pitné vody. Např. na počátku 20. století bylo připraveno porézní kovové pletivo ze stříbra, tzv. „Katadyn stříbro“, které bylo použito jako antibakteriální vodní filtr⁴. Patil a spol.¹² provedli srovnávací studii dezinfekčních prostředků využívaných v domácích úpravách vody. Jako testovací voda byla použita podzemní voda s uměle naočkovaným bakteriálním kmenem *Escherichia coli* ATCC11229, odpovídající koncentraci 10^6 KTJ ml⁻¹. U obou testovaných forem stříbra, iontů stříbra a AgNP syntetizovaných z AgNO₃ za použití citrátu jako redukčního činidla, bylo zapotřebí alespoň 3 h doby kontaktu při koncentraci aktivního dezinfekčního činidla nižší než 1 mg l^{-1} .

Potenciální využití AgNP v úpravě vody se v současné době testuje např. ve spojení s titanem při solární dezinfekci nebo ve spojení s jinými materiály určenými pro filtraci. Solární dezinfekce je jednoduchý proces, kdy je pitná voda vystavena působení slunečního záření, které inaktivuje patogenní organismy. Proces dezinfekce probíhá při vlnové délce v rozsahu 290–400 nm se středem v oblasti 340 nm. Jedním z nejvíce využívaných fotokatalyzátorů je TiO₂, a to díky své nízké toxicitě, vysoké fotokatalytické účinnosti a stabilitě. TiO₂ absorbuje UV záření o vlnové délce menší než 385 nm, které je zodpovědné za proces fotokatalytické dezinfekce. AgNP mají rovněž schopnost absorbovat viditelnou část světla a v kombinaci s TiO₂ by se mohly využívat při dezinfekci vody. Tenké vrstvy obsahující TiO₂ a AgNP jsou podstatně více fotokatalyticky a antimikrobiálně aktivnější než samotný titanový film⁹. Pomocí malého fotoreaktoru lze fotokatalytickou dezinfekci účinně odstranit i viry. Například AgNP zvyšovaly fotokatalytickou aktivaci TiO₂ při inaktivaci bakteriofága MS2 (cit.¹³). Virus MS2 je odolnější vůči dezinfekci UV záření než jiné bakteriofágy a také je odolnější vůči chloru a chloraminu v porovnání s virem hepatitidy A či poliovirem. Pro fotokatalytické a antimikrobiální testy byl bakteriofág MS2 zvolen právě kvůli jeho podobnosti s mnoha patogenními viry šířícími se vodou a dále kvůli jednoduchosti jeho šíření a enumeraci v testech. Zvýšení inhibičního účinku AgNP/TiO₂ lze vysvětlit interakcí aminokyselin se stříbrem. Na povrchu kapsidy bakteriofága MS2 se nachází 183 cysteinových zbytků a stříbro má vysokou afinitu k thiolovým skupinám. Výsledky experimentů naznačují, že za dezinfekční účinek je zodpovědná

spíše zvýšená fotokatalytická aktivita než samotné antivirové působení AgNP (cit.¹³). V případě využití solární dezinfekce je zapotřebí vzít v úvahu mnoho proměnných, kterými jsou měnící se vlnová délka slunečního záření, teplota vody, zákal, hodnota pH, koncentrace rozpuštěného kyslíku v průběhu roku a výběr vhodného konstrukčního materiálu, kterými může být dezinfekce ovlivněna. Při katalýze vznikají poměrně přirozené látky, čímž se snižuje také tvorba nebezpečných vedlejších produktů.

AgNP je možné využít jako tenké vrstvy potažené na různých filtračních materiálech, např. na polyuretanové pěně, alginátových kompozitních perličkách, skleněných vláknách, aktivním uhlí, polypropylenu, papíru či keramických filtrech. U některých materiálů, které jsou v kombinaci s AgNP využívány, nejsou dostupné všechny ekvivalentní informace o jejich schopnosti odstranit mikroorganismy z vody, proto je mnohdy těžké stanovit vlastní přínos stříbra v tomto typu technologie¹⁴. Obr. 3 prezentuje výsledky modifikovaných řasových testů exponovaných AgNP metodou jejich nástřiku přímo na plochu s viditelným nárůstem řas nebo jejich inkorporací do živného agarového média.

AgNP potažené na běžném polyuretanu vykazovaly stabilitu a nedocházelo k jejich vymytí, protože stabilita je dána interakcí AgNP s atomem dusíku v molekule polyuretanu. Při průtoku vody $0,5 \text{ l min}^{-1}$ byl zaznamenán pokles počtu bakterií *Escherichia coli* na nulu již po několika sekundách. Obdobná stabilita filtračního materiálu byla také dosažena při využití makroporézního materiálu složeného z kyseliny methakrylové, kde je stabilita v tomto případě dána interakcí AgNP s karboxylovou skupinou. Testy prokázaly inhibiční účinky na grampozitivní bakterie druhů *Bacillus subtilis* a *Staphylococcus aureus* a gramnegativní bakterie druhů *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa*¹⁵. Další prototypový filtr vytvořený z polyuretanové pěny byl potažený AgNP stabilizovanými citrátem. Antibakteriální účinnost byla sledována po přidání pěny ošetřené AgNP k suspenzi bakterií *Escherichia coli* o koncentraci 10^5 – 10^6 KTJ ml⁻¹ (KTJ, kolonií tvořících jednotek) a stanovena inhibiční růstu bakterií po 5–10 min expozice. V porovnání s neošetřenou pěnou byl podstatný rozdíl v růstu bakterií, kdy samotné vzorky polyuretanu podporovaly růst počtu kolonií¹⁴. Dobré antibakteriální účinky byly prokázány při použití hybridní ultrafiltrační membrány, vyrobené z polyuretanu s modifikovanými nanotrubičkami, jež bránila dokonce tvorbě usazenin¹⁶. Stříbrem mohou být potaženy také například katalyzátory Al₂O₃, které vykazovaly vysokou baktericidní aktivitu při pokojové teplotě ve vodě, a to i bez potřeby dodání jakéhokoli světla nebo elektrického příkonu. Na antibakteriálním procesu se podílely také kyslíkové radikály, což naznačuje, že je nezbytná přítomnost rozpuštěného kyslíku. Synergickým působením vzniklých radikálů reaktivních forem kyslíku (ROS, reactive oxygen species) a uvolněných iontů stříbra došlo k rozkladu buněčné stěny, uvolnění intracelulární složky a úplné lyzi buněk¹⁷. Další možností pro rychlé a mobilní čištění/úpravu vody by mohly být alginátové partikule potažené



Obr. 3. Inhibiční účinek AgNP o velikosti 12 nm aplikovaných v živném agarovém médiu (a-f) na řasovou kulturu kmene CCALA 688 *Desmodesmus subspicatus* po 7 dnech expozice, anebo aplikovaných metodou nástříku na povrch filtru ze skleněných vláken s rostoucí řasovou kulturou (v kontrolním vzorku bez AgNP (a) a (g), při koncentracích neředěného komerčního přípravku (b) a (h), 10 % (c), 5 % (d), 1 % (e), 0,5 % (f)

vrstvičkou AgNP. Alginátové kompozitní AgNP v hodnoceném systému efektivně odstraňovaly kontaminaci bakterií *Escherichia coli*, když jejich účinnost byla závislá na zvoleném postupu přípravy¹⁸.

Antibakteriální účinnost filtrů ze skleněných vláken s AgNP byla testována při statickém i dynamickém uspořádání ve venkovských komunitách v Jižní Africe¹⁹. Zkoušely se filtry ze skleněných vláken s AgNP a bez AgNP. Při průtokové rychlosti 20 l min⁻¹ filtrem s AgNP byla zjištěna výrazná inhibice růstu bakterií *Escherichia coli*, kdy ve filtrátu nebyly detekovány žádné bakterie. Tyto filtry byly účinné při odstraňování bakterií rodu *Salmonella*, *Shigella* a fekálních koliformních bakterií přítomných v surové podzemní vodě, sloužící pro zásobování v komunitě. Skleněné filtry impregnované AgNP vykazovaly silnější antimikrobiální aktivitu v porovnání s aktivním uhlím obsahujícím AgNP (cit.¹⁰). Aktivní uhlí se využívá zejména jako vysoce účinný sorbent pro odstranění široké škály organického i anorganického znečištění z vody. V oblasti Abu Rawash v Egyptě bylo pro recyklaci vyčištěné odpadní vody použito granulované aktivní uhlí potažené AgNP (cit.⁶). Impregnace stříbra na aktivní uhlí probíhala ponořením granulovaného aktivního uhlí do roztoku AgNP. Zkoušená voda byla odebrána z čistírny odpadních vod po sekundární úpravě. Celkový počet přítomných mikroorganismů se pohyboval v rozmezí 10²–10⁶ KTJ ml⁻¹, průtok vody byl konstantní 0,8 l min⁻¹. Po průchodu vrstvou AgNP/aktivní uhlí nebyly na výstupu

z technologie zaznamenány žádné přítomné kultivovatelné bakterie. Inhibice růstu bakterií vzrůstala s koncentrací AgNP a dobou kontaktu kontaminované vody s vrstvou AgNP/aktivní uhlí⁶.

Obdobný účinek byl zaznamenán také u polypropylenového filtru potaženého AgNP (cit.²⁰). Po 7 hodinách filtrace a recirkulace nebyl výskyt bakterií *Escherichia coli* ve filtrované vodě zaznamenán. Koncentrace bakterií *Escherichia coli* ve vodě procházející přes neošetřený filtr zůstala na původní hodnotě 10³ KTJ ml⁻¹. Pomocí skenovací elektronové mikroskopie bylo prokázáno, že se bakterie *Escherichia coli* zachytily na povrchu filtru potaženého AgNP a že nedochází k uvolňování AgNP do filtrátu.

AgNP navázané na polysulfonovou membránu efektivně inhibovaly druhy bakterií *Escherichia coli* K12 a *Pseudomonas mendocina* KR1, a dokonce potlačily množení viru MS2. Antimikrobiální aktivita byla způsobena primárně uvolňovanými ionty stříbra. Zvýšením hydrofilních vlastností stříbro zabraňovalo tvorbě biofilmu na povrchu membrány. Nicméně docházelo ke ztrátě antimikrobiálních účinků následkem uvolňování iontů stříbra z membrány²¹. Dankovich a spol.²² využili pro úpravu vody papírových filtrů s nanosenými AgNP. Účinnost byla hodnocena průchodem modelových bakteriálních suspenzí *Escherichia coli* a *Enterococcus faecalis* skrze filtr a následnou analýzou životaschopnosti bakterií. Bakterie *Escherichia coli* byly inhibovány účinněji než *Enterococcus faecalis*. Nízké procento bakterií bylo z vody od-

straněno pouhým zachycením buněk na filtru. Řada běžně dostupných filtračních materiálů (zeolit, písek, skleněná vlákna, aniontové a kationtové pryskyřice) potažených AgNP byla testována na vzorcích podzemních vod obsahujících bakterie *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium, *Shigella dysenteriae* a *Vibrio cholerae* (všechny bakterie byly přítomny v řádech 10^3 KTJ ml^{-1})²³. Nejlepší antimikrobiální výsledky byly zjištěny v případě použití kationtové pryskyřice, a to až 100 %. K odstranění všech cílových druhů bakterií došlo během 120 min účinku, aniž by došlo k jejich opětovnému nárůstu. Zeolitový filtr měl nejslabší výkon, přičemž míra odstranění bakteriální kontaminace byla mezi 8 a 67 %. Množství iontů stříbra, které se uvolnily z filtračního materiálu, překračovalo výrazně doporučený limit pro pitnou vodu (více než $0,1 \text{ mg l}^{-1}$). Během prvních 10 min byly uvolněny vysoké koncentrace ze zeolitu, písku, skleněných vláken a substrátů aniontové pryskyřice. Nejnižší koncentrace stříbra, pod $0,1 \text{ mg l}^{-1}$, byla uvolněna z kationtové pryskyřičného filtru²³.

Důležitým aspektem při navrhování a využití keramických filtrů je použitý typ AgNP. Přestože nanočástice zlepšují odstraňování patogenů a dezinfekci v keramických vodních filtrech, není doposud známá ani jejich optimální dávka. Pro výrobu jsou používány různé typy AgNP a množství stříbra nanesené na jeden filtr je variabilní. Na keramické filtry se AgNP obvykle aplikují po vypálení, buď přímým nanesením na povrch filtru, nebo ponořením keramického filtru do roztoku suspenze AgNP. V pórech filtru, které vznikají při jeho vypalování, se AgNP zachytí a zajišťují výsledný dezinfekční účinek. Filtry mohou účinněji odstraňovat z vody patogenní bakterie typu *Escherichia coli* spolu s částicemi virů a prvků, ale také mohou redukovat zákal vody. Ren a spol.²⁴ využili při testování AgNP na keramických filtrech tři různé metody aplikace AgNP na povrch, a to přímou aplikací pomocí nátěru, vnořením do roztoku a využitím vysokých teplot. Procento stříbra zadržované v keramickém filtru se zvyšovalo s rostoucí iontovou silou, přičemž AgNP nanesené na keramické filtry při vysokých teplotách uvolňovaly do roztoku nejméně iontů stříbra ze všech tří použitých metod aplikace AgNP na filtry. AgNP je možné na keramické filtry navázat také pomocí pojiv, např. 3-aminopropyltriethoxysilanem. Při průtoku $0,01 \text{ l min}^{-1}$ a biologickém zatížení vyšším jak 10^5 KTJ ml^{-1} byl počet bakterií *Escherichia coli* na výstupu nulový. Filtry byly odolné proti vymytí AgNP při průtoku vody a vykazovaly dlouhodobější životnost²⁵.

Vzhledem ke snaze docílit ekologicky šetrnějších technologií a postupů jsou také testovány AgNP, které jsou připravené biologickou syntézou. Biokonjugát AgNP připravený pomocí mikromycety *Rhizopus oryzae* byl zkoušen v simulované kontaminované vodě obsahující *Escherichia coli* a pesticidy²⁶. V průběhu 10 min došlo k výraznému snížení koncentrace pesticidů a hustoty bakterií *Escherichia coli*. Na povrchu mycelia *Rhizopus oryzae* se výrazně adsorbovaly pouze organofosfátové pesticidy, interakcí mezi atomem síry pesticidů a atomy stříbra AgNP biokonjugátu. Hlavní hnací silou adsorpce těchto pesticidů byla kovalentní vazba. Koncentrace organochlo-

rových pesticidů se nezměnila, protože nedocházelo k interakci s AgNP. Životaschopnost bakteriálních buněk *Escherichia coli* se v ošetřené vodě snížila až o 90 % (cit.²⁶). Biologicky syntetizované AgNP mohou účinněji odstranit i přítomné viry, např. AgNP připravené redukcí pomocí bakterií mléčného kvašení *Lactobacillus fermentum* účinně inaktivovaly myší norovirus MNV-1 nebo bakteriofága UZ1 (cit.²⁷). De Gusseme a spol.²⁸ porovnávali účinky biologicky syntetizovaných a chemicky syntetizovaných AgNP a iontů stříbra pro dezinfekci vody. Bio-AgNP byly účinné vůči noroviru a inhibice byla zaznamenána již po 30 minutách. Ionty stříbra opět vykazovaly nižší inhibici. Imobilizací biologicky syntetizovaných AgNP na mikroporézní membrány bylo zjištěno, že tyto membrány jsou schopny dosáhnout výraznější redukce koncentrace bakteriofága UZ1 v porovnání s membránou bez AgNP. Inaktivace probíhala jak při nízkém, tak i při vysokém průtoku, pravděpodobným mechanismem účinku bylo postupné uvolňování iontů stříbra z membrány^{27,28}.

Nanotechnologie by mohly přinést také řešení technologických problémů spojených s odstraňováním problematických kontaminantů z vody³. AgNP by mohly být využity pro odstraňování halogenovaných organických látek, protože mineralizují halogenované uhlovodíky obdobným mechanismem jako jiné kovy. Reakce probíhá ve dvou krocích, kdy se nejprve halogenderiváty adsorbují na povrchu nanočástice a následně dochází k mineralizaci za vzniku halogenidu kovu a amorfního uhlíku. AgNP by mohly přinést i řešení problémů spojených s kontaminací vody pesticidy, protože při jejich odstraňování nevznikají vedlejší produkty, pouze halogenid a amorfní uhlík, který je z ekologického hlediska neškodný pro životní prostředí. Pomocí pokročilých technik hmotnostní spektroskopie bylo potvrzeno, že dochází k celkové mineralizaci zkoumaných vzorků pesticidů (chlorpyrifos a malathion), kdy v analyzovaném vzorku nebyly přítomny vedlejší produkty⁴.

3. Přítomnost nanočástic stříbra v systémech odpadních vod

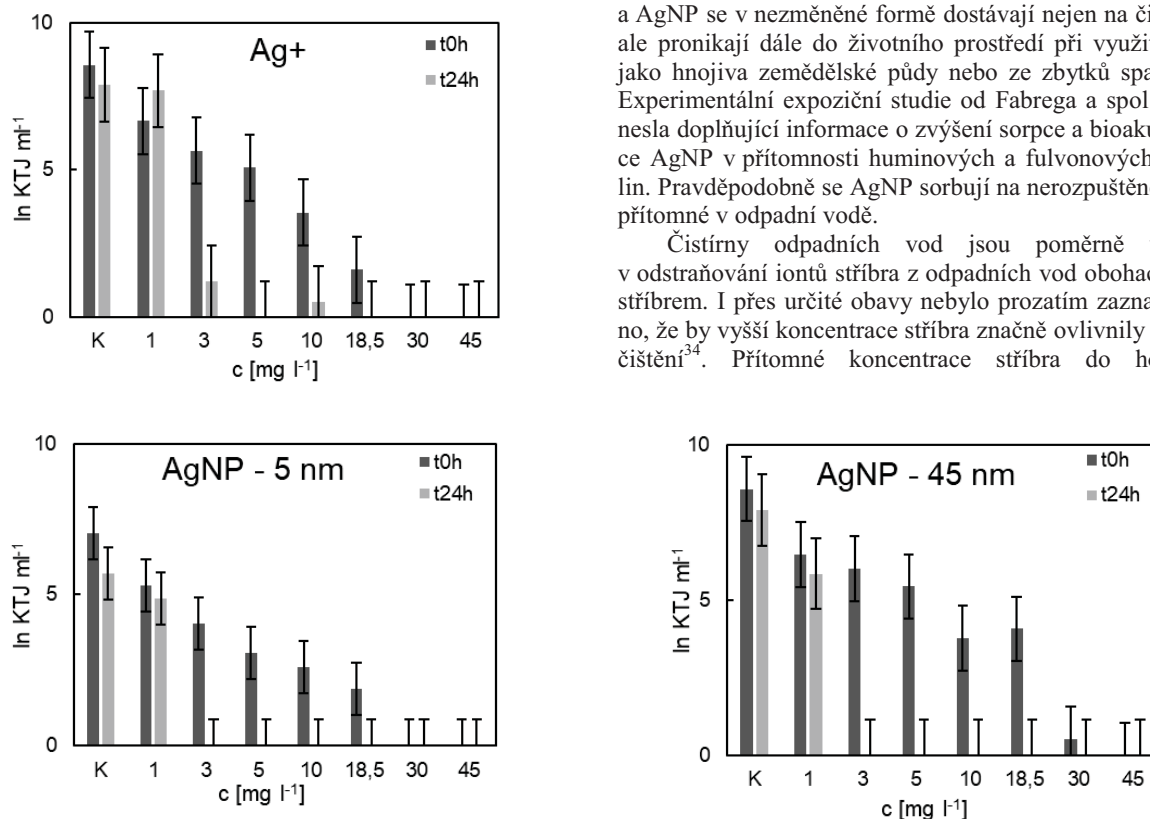
Roční produkce nanomateriálů je odhadována na tisíce tun, a jejich spotřeba i nadále stoupá, odhadem 23 % připadá na AgNP (přibližně 320 t ročně). Vlastní odpad s obsahem stříbra se buď spaluje ve spalovnách, nebo dochází k jeho skládkování na skládkách v Evropě, Asii a Severní Americe. Při spalování končí stříbro ve strusce a ve zbytkovém popílku, do ovzduší se tak dostává minimum emisí (cca 1 %). Skládkováním může dojít k uvolnění stříbra do podloží a do podzemních vod. Zbytky reziduí se mohou dostat do přírodních vod, odpadních vod nebo se ukládají v půdě^{29,30}. I přes ochranná opatření končí častokrát průmyslové produkty, odpady i nanoodpady ve vodních útvech, v řekách, jezerech, ústí řek a pobřežních vodách. Mezi nanoodpad se řadí odpady z výroby (zpracování a výroba nanomateriálu), materiály jejichž povrchy jsou kontaminované nanomateriály a produkty s obsahem nanomateriálu na konci fáze jejich užívání. Některé produkty mohou kontaminovat prostředí již

v průběhu svého užívání při jejich kontaktu s vodou, praním, oplachem nebo splachem. Za deštivého počasí může dojít ke splachu nanočástic z povrchů fasády, maleb atd., čímž se do splaškových vod dostane až $145 \mu\text{g l}^{-1}$ AgNP (cit.³¹). Například při praní textilií ošetřených AgNP dochází k uvolňování nejen iontů stříbra, ale i samotných AgNP do vody. Při několikanásobném praní ponožek s obsahem AgNP v ultra čisté vodě přešly AgNP do vody po třech cyklech, podíl iontu stříbra byl z celkového množství uvolněného stříbra 70–90 % (cit.³²). Při běžném používání se AgNP mohou spolu s odpadní vodou dostat na čistírnu odpadních vod v tekuté, a hlavně aktivní formě a případně ovlivnit čisticí proces.

Stříbro se dostává s odpadní vodou kanalizačním systémem až na čistírnu odpadních vod. V odpadní vodě přitékající na čistírnu byla celková koncentrace stříbra odhadnuta zhruba na $2\text{--}18 \mu\text{g l}^{-1}$ (cit.²⁹). Je pravděpodobné, že se určitá část AgNP může v kanalizaci udržet a následně se vyplavit při větší srážkové činnosti do okolního prostředí. Na obr. 4 jsou prezentované výsledky testů AgNP o velikosti 5 nm a 45 nm a iontů stříbra na populaci koliformních bakterií přítomných v odpadní vodě. V kanalizačním systému probíhají různé fyzikální a chemické transformace nanočástic. Ve splaškových vodách jsou např. vysoké koncentrace sulfidů (až 6 mg l^{-1}), které

s největší pravděpodobností přeměňují AgNP na Ag_2S ještě před vstupem na čistírnu odpadních vod³³. V porovnání s chemickým složením přírodních vod jsou v odpadních vodách tyto reakce díky vysokým koncentracím sulfidů častější a snazší. Většina AgNP, které se dostávají do odpadních vod, podléhají transformaci na sulfid stříbra a tím pádem se mohou začlenit do suspenze čistírenských kalů³⁴. V odpadních vodách se ovšem nevyskytují pouze sulfidy, ale také další látky, které mohou transformaci AgNP ovlivnit, např. dusičnany, amonné ionty, fosforečnany nebo karboxyláty. V závislosti na podmínkách prostředí a vlastnostech AgNP, např. modifikace povrchu a velikost částic, se transformují na různé formy, jako je iontové stříbro, Ag_2O a Ag_2S . Zapotřebí je zohlednit přítomnost mikroorganismů a biofilmu, ve kterém se mohou AgNP hromadit. Ačkoliv se zdá, že biofilm odpadních vod nehraje významnou úlohu v transportu AgNP kanalizačním systémem, nejspíše ovlivňuje rozsah sulfidace AgNP produkcí a uvolňováním sulfidů z anaerobních zón uvnitř biofilmu. AgNP podléhají sulfidaci v závislosti na velikosti původních AgNP, na dostupnosti sulfidů a na době expozice v kanalizačním systému a čistíren odpadních vod. Kaegi a spol.³³ sledovali chování AgNP v městských odpadních vodách. Podle výsledků této studie mohou být AgNP transportovány kanalizačním systémem, aniž by došlo k jejich sorpci na vytvořený biofilm. Pokud se AgNP zachytí do biofilmu, nemusí dojít ke vzniku sulfidů a AgNP se v nezměněné formě dostávají nejen na čistírnu, ale pronikají dále do životního prostředí při využití kalu jako hnojiva zemědělské půdy nebo ze zbytků spaloven. Experimentální expoziční studie od Fabrega a spol.³⁵ přinesla doplňující informace o zvýšení sorpce a bioakumulace AgNP v přítomnosti huminových a fulvonových kyselin. Pravděpodobně se AgNP sorbují na nerozpuštěné látky přítomné v odpadní vodě.

Čistírny odpadních vod jsou poměrně účinné v odstraňování iontů stříbra z odpadních vod obohacených stříbrem. I přes určité obavy nebylo prozatím zaznamenáno, že by vyšší koncentrace stříbra značně ovlivnily proces čištění³⁴. Přítomné koncentrace stříbra do hodnoty



Obr. 4. Inhibiční účinek iontů stříbra a AgNP o velikosti 5 nm a 45 nm na populaci koliformních bakterií přítomných v odpadní vodě přitékající na městskou mechanicko-biologickou čistírnu odpadních vod (K – kontrolní vzorek odpadní vody), test byl uskutečněn na dobu 24 h

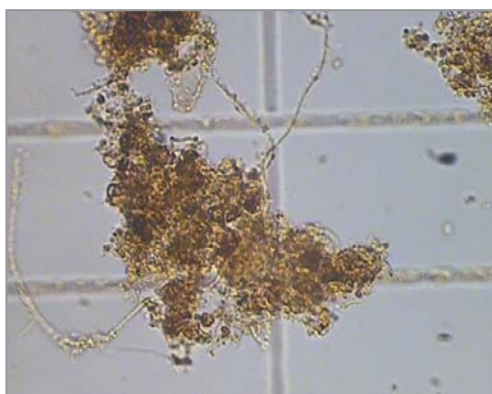
1,84 mg l⁻¹ neměly významný vliv na účinnost aerobního procesu čištění. Prakticky veškeré stříbro, více jak 94 %, bylo zachyceno v kalu³⁶. V primárním stupni čištění na čistírně odpadních vod AgNP nezpůsobují problémy, většinou zde dochází k jejich částečnému odstranění sorpcí na povrchu nerozpuštěných látek nebo oxidací a srážením uvolněných iontů stříbra³⁰. V této části čistírny dojde k odstranění pouze cca 10 % z celkové původní koncentrace AgNP (cit.³⁷). V případě probíhajících chemických a fyzikálně-chemických procesů na čistírně je již situace s AgNP o něco komplikovanější. AgNP podléhají mnoha chemickým přeměnám, rozpouští se, oxidují se na iontovou formu stříbra. Oxidací AgNP se logicky snižuje množství oxidačních činidel, jako je H₂O₂ či O₂ a zároveň dochází k uvolnění iontů stříbra, které představují reálné riziko pro biocenózu aktivovaného kalu (nejcitlivější část čistírny odpadních vod, viz obr. 5). V závislosti na hodnotě pH a koncentraci rozpuštěného kyslíku dochází ke srážení stříbra na Ag₂S, přičemž většina AgNP přítomných v kalu se přemění na Ag₂S (cit.^{30,38}). Tyto reakce AgNP s H₂S jsou velmi důležité, protože dochází nejen ke snížení původní toxicity AgNP, ale také se snižuje množství síry v odpadních vodách³⁰. Agregace AgNP do větších celků vede ke ztrátě nanoformy a tím dochází částečně ke snížení vlastní toxicity. Agregáty a adsorbované AgNP na pevných látkách sedimentují a zůstávají obsaženy v kalu. Chemické procesy, probíhající při čištění odpadních vod, se rovněž podílejí na snižování počtu přítomných nanočástic a jejich toxicity, avšak stále jsou nanočástice přítomny v sedimentovaném kalu³⁷.

V sekundárním stupni čištění odpadních vod dochází k odstranění většiny AgNP, např. při klasickém uspořádání systému, denitrifikace–nitrifikace, jsou AgNP z více než 95 % odstraněny společně s kalem. Značná část se jich sorbuje na biomasu, anaerobní zóna v nádrži umožňuje jejich rychlou transformaci na Ag₂S. Kaegi a spol.³⁸ prokázali, že sulfidace AgNP může nastat během anaerobní fáze procesu čištění odpadních vod reakcí AgNP, popřípadě uvolněných iontů stříbra s redukovanými skupinami síry.

Pomocí transmisní elektronové mikroskopie, rentgenové absorpční spektroskopie a kompoziční analýzy kalu zjistili, že po 43 dnech se 85 % stříbra z AgNP sorbovalo ve formě Ag₂S, zatímco na odtoku bylo pouze 5 % stříbra. Další podrobné mikroskopické studie odhalily Ag₂S v čistírenském kalu na více provozech čistíren odpadních vod³³. AgNP by vzhledem ke svým antimikrobiálním vlastnostem mohly představovat určité riziko pro vitalitu a metabolickou aktivitu biocenózy aktivovaného kalu. V případě inhibičních účinků AgNP a iontů stříbra na mikroorganismy aktivovaného kalu by mohlo dojít ke snížení účinnosti čistícího procesu³⁷.

Nejcitlivějším procesem probíhajícím v biologické části čistírny je proces nitrifikace. Nitrifikační bakterie popř. nitrifikanti jsou citlivé na změnu hodnoty pH, teplotu a přítomnost toxických látek³⁰. Případný inhibiční vliv AgNP by se následně projevil na nedostatečném odstranění nutrientů a dusíkatých látek v čištěných odpadních vodách³⁷. Nitrifikační bakterie jsou vynikajícím ukazatelem funkčnosti biologických systémů čištění odpadních vod (viz obr. 6). Na základě chemických reakcí, které zprostředkovávají, lze rozlišit bakterie oxidující amoniak na dusitany, tzv. AOB (ammonia oxidizing bacteria) a bakterie oxidující dusitany na dusičnany, tzv. NOB (nitrite oxidizing bacteria). Vzhledem k pomalejšímu růstu AOB (bakterie rodů *Nitrosomonas*, *Nitrospira* a *Nitrosococcus*) a jejich citlivosti na stresové prostředí je oxidace amoniaku řídicím procesem určujícím rychlost celého procesu³⁹. AgNP vykazují v porovnání s jinými formami stříbra nejvyšší toxicitu na nitrifikační bakterie³⁰ a pravděpodobně ovlivňují enzymatické reakce související s oxidací amoniaku³⁹. Enzymy, které jsou odpovědné za oxidaci amoniaku (monooxygenasa a hydroxylaminoxidoreduktasa) se nachází v buněčné stěně a periplazmatickém prostoru bakterií. Poškozením buněčné stěny vlivem AgNP tak dojde nejen k poškození buněk, ale rovněž celého enzymatického procesu³⁰. Při vystavení čisté kultury buněk *Nitrosomonas europaea* AgNP o různé povrchové modifikaci (polyvinylalkohol a adenosin-

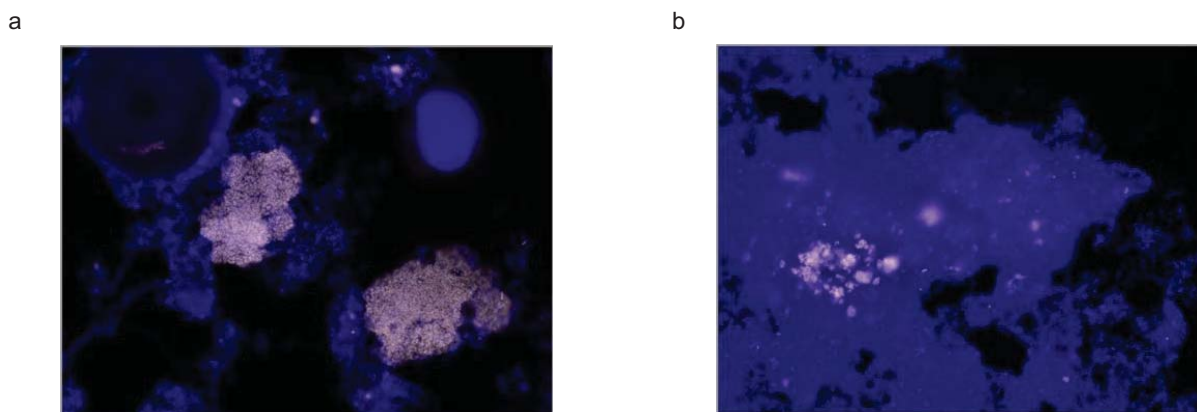
a



b



Obr. 5. Mikroskopický snímek vloček aktivovaného kalu v kontrolním testu (a) a při aplikaci AgNP o velikosti 5 nm a koncentraci 18,5 mg l⁻¹ po 7denní expozici (b), foceno na rastru počítací komůrky Cyrus II (délka strany základního čtverce rastru 200 μm)



Obr. 6. Mikroskopický snímek prezentující vliv AgNP na populaci amoniak oxidujících β -proteobakterií (světlé shluky na snímcích) v kalu kontrolního vzorku (a) a v kalu vystaveného působení AgNP o velikosti 45 nm a koncentraci $18,5 \text{ mg l}^{-1}$ po 14denní expozici (b). Inhibiční účinek je patrný na poklesu signálů klastřů sondy NSOMix (NSO192+NSO1225) značených Cy3 (v kontrole 5,1% podíl bakterií a v testované koncentraci AgNP 1,7% podíl)

trifosfát disodný) a odlišné velikosti (7 ± 3 a 40 ± 14 nm) byla pozorována inhibice oxidace amoniaku v závislosti na velikosti jednotlivých AgNP, ale také na jejich povrchové modifikaci. Po přidání AgNP do média došlo ve všech případech k agregaci, která byla ovlivněna nejen přítomností buněk, ale také elektrolytů. Inhibice nebyla způsobena pouze uvolněným rozpuštěným stříbrem, ale také disperzí AgNP v kultivačním médiu. Pomocí elektronové mikroskopie a analýzy SERS (surface-enhanced Raman scattering, povrchem zesílený Ramanův rozptyl) bylo prokázáno, že AgNP mohou způsobit poškození buněčné stěny *Nitrosomonas europaea* a způsobit rozpad nukleotidů. Analýza exprese proteinu odhalila potlačení exprese důležitých funkčních proteinů *Nitrosomonas europaea*, včetně ATPsyntasy, amoniakální monoxygenasy a hydroxylaminové oxidoreduktasy⁴⁰. Liang a spol.⁴¹ vystavili aktivovaný kal působení AgNP a iontů stříbra v koncentracích 1 mg l^{-1} na dobu 12 h. AgNP měly vyšší inhibiční účinek na nitrifikační bakterie aktivovaného kalu, snižovaly celkové počty bakterií AOB i NOB a výsledné inhibice růstu byly 41,4 % pro AgNP a 13,5 % pro iontové stříbro. Změny ve struktuře společenstva a snížení druhové rozmanitosti byly pozorovány při působení obou forem stříbra, AgNP a iontového stříbra⁴². AgNP s průměrnou velikostí částic 35 nm o koncentraci 40 mg l^{-1} způsobily po sedmidenní expozici významný pokles v počtu bakterií rodu *Nitrosomonas* a úplné odstranění bakterií rodu *Nitrosococcus*. K obdobným závěrům došli také Choi a spol.⁴³, kteří ve své práci testovali účinky AgNP (14 ± 6 nm), iontů stříbra (AgNO_3) a koloidního AgCl ($0,25 \mu\text{m}$) v koncentracích 1 mg l^{-1} na růst nitrifikačních bakterií. Inhibiční účinky byly hodnoceny na základě respirometrických testů, ke snížení nitrifikace došlo téměř o 90 %. Nejvyšší inhibici působily AgNP (86 ± 3 %), dále pak koloidní stříbro AgCl (46 ± 4 %) a ionty stříbra (42 ± 7 %). Gaio a spol.³⁹ prezentovali práci, ve které AgNP o koncentraci do 10 mg l^{-1} , se stejnou průměrnou velikostí, snížily aktivitu oxidace amoniaku pouze o 50 %. Většina studií přisuzuje vyšší citlivost

nitrifikačních bakterií spíše AgNP. Nicméně k dispozici jsou studie testů, ve kterých inhibičně působily ionty stříbra po sedmidenní expozici na bakterie *Nitrosomonas europaea* až 20krát víc (minimální inhibiční koncentrace, MIC $25 \mu\text{g l}^{-1}$) než AgNP (MIC $500 \mu\text{g l}^{-1}$)⁴³. AgNP mohou také ovlivnit velikost a strukturu vloček aktivovaného kalu, následkem čehož může dojít ke špatnému usazování aktivovaného kalu⁴⁴.

Při terciárním čištění odpadních vod dochází k oxidaci AgNP působením dezinfekčních činidel. Ozon oxiduje AgNP v čase kratším než 1 minuta. Oxidace chlornanem sodným je delší, v řádech desítek minut, přičemž lze docílit i vyšší rychlosti zvýšením hodnoty pH a iontové síly. Oxidace UV zářením v neutrálním prostředí neprobíhá, je zapotřebí slabě kyselé nebo zásadité prostředí a vyšší iontová síla. Protože UV záření se využívá při výrobě nanočástic pro redukci iontů stříbra na Ag^0 , opět může docházet k tvorbě AgNP. Vysoké koncentrace AgNP mohou absorbovat UV světlo a tím redukovat výkon systému⁴⁵.

4. Závěr

Využití AgNP v technologiích úpravy vody se jeví jako vysoce perspektivní a nabízí alternativu stávajícím technologiím. Pokud se nanášejí AgNP ve formě suspenze pro potřeby např. membránové filtrace, je zapotřebí dostatečně zajistit imobilizaci nanočástic na povrchu reaktoru nebo membránových filtrů. Avšak vzhledem k postupnému uvolňování AgNP a iontů stříbra z membrány do upravované vody lze impregnované membrány používat prozatím velmi omezeně^{25,26}. Osud transformovaných AgNP, jejich stabilita (krystalický/amorfní Ag_2S) a další transformace v systému s odpadními vodami nejsou jednoznačně vysvětlené a popsáné. Bez ohledu na velikost, typ nebo povrchovou úpravu podléhají AgNP heteroagregaci s vločkami aktivovaného kalu, což je dáno jejich velkým naředěním v suspenzi. Průmyslově vyráběné

AgNP jsou většinou proti agregaci stabilizovány. Prozatím není k dispozici dostatek studií pro posouzení dlouhodobého vlivu AgNP na aktivovaný kal. V aktivovaném kalu jsou mikroorganismy chráněny díky tvorbě extracelulárních polymerních látek, jako jsou bílkoviny, cukry a extracelulární DNA. Při koncentracích AgNP v řádech $\mu\text{g l}^{-1}$ se předpokládá nulová antibakteriální aktivita na bakterie aktivovaného kalu²⁷. V současné době je ve světě snaha dosáhnout pro stříbro v odpadních vodách podobných limitů, jako je tomu u pitných vod ($0,1 \text{ mg l}^{-1}$). Z přehledného referátu vyplývá, že je zapotřebí zajistit, aby koncentrace stříbra nepřekračovala stanovené limity. V ČR nejsou koncentrace stříbra ve vodách přicházejících na čistírny zatím monitorovány a není k dispozici rovněž legislativní předpis.

Celkově lze konstatovat, že je nutné eliminovat případné ekologické riziko spojené s využíváním AgNP ve vodním hospodářství. Aplikované AgNP se uvolňují postupně z povrchů, materiálů, roztoků apod., unikají z technologického systému, vstupují do upravované, čištěné anebo recyklované vody, kde se stávají případným rizikem nejen pro vlastní technologický proces, ale případně i recipient s přítomnými biocenózami a organismy.

Seznam zkratk

| | |
|------|---|
| AgNP | nanočástice stříbra |
| AOB | bakterie oxidující amoniak na dusitany (ammonia oxidizing bacteria) |
| ČOV | čistírna odpadních vod |
| KTJ | kolonie tvořící jednotky |
| MIC | minimální inhibiční koncentrace |
| NOB | bakterie oxidující dusitany na dusičnany (nitrite oxidizing bacteria) |
| ROS | reaktivní formy kyslíku (reactive oxygen species) |
| SEM | rastrovací elektronový mikroskop |
| SERS | povrchem zesílený Ramanův rozptyl (surface-enhanced Raman scattering) |
| TEM | transmisní elektronový mikroskop |

LITERATURA

- Čiháková P., Zuzáková J., Říhová Ambrožová J.: Chem. Listy 115, 588 (2021).
- Vyhláška č. 437/2016 Sb. o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě a změně vyhlášky č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady a změně vyhlášky č. 341/2008 Sb., o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady a o změně vyhlášky č. 294/2005 Sb., o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu a změně vyhlášky č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady (vyhláška o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady. Sbírka zákonů 2016, částka 178, str. 6994.
- Hillie T., Hlophe M.: Nat. Nanotechnol. 2, 663 (2007).
- Pradeep T.: Thin Solid Films 517, 6441 (2009).
- Li Q., Mahendra S., Lyon D. Y., Brunet L., Liga M. V., Li D., Alvarez P. J.: Water Res. 42, 4591 (2008).
- El-Aassar A. H., Said M., Abdel-Gawad A., Shawky H.: Aust. J. Basic Appl. Sci. 7, 422 (2013).
- Tran Q. H., Le A.-T.: Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol. 4, 033001 (2013).
- Booshehri A. Y., Wang R., Xu R.: Chem. Eng. J. 230, 251 (2013).
- Kumar R. V., Raza G.: Ionics 15, 579 (2009).
- Fewtrell L.: Silver: Water Disinfection and Toxicity. Aberystwyth University, Aberystwyth (2014).
- Silvestry Rodriguez N.: Silver Disinfection in Water Distribution Systems. Dissertation. The University of Arizona, Arizona 2008.
- Patil R. A., Kausley S. B., Balkunde P. L., Malhotra C. P.: J. Water Health 11, 443 (2013).
- Liga M. V., Bryant E. L., Colvin V. L., Li Q.: Water Res. 45, 535 (2011).
- Jain P., Pradeep T.: Biotechnol. Bioeng. 90, 59 (2005).
- Gangadharan D., Harshvardan K., Gnanasekar G., Dixit D., Papat K. M., Anand P. S.: Water Res. 44, 5481 (2010).
- Zhang H., Wu M., Sen A., v knize: Nano-antimicrobials, str. 3. Springer, Berlin 2012.
- Chang Q., He H., Ma Z.: J. Inorg. Biochem. 102, 1736 (2008).
- Lin S., Huang R., Cheng Y., Liu J., Lau B. L., Wiesner M. R.: Water Res. 47, 3959 (2013).
- Nangmenyi G., Xiao W., Mehrabi S., Mintz E., Economy J.: J. Water Health 7, 657 (2009).
- Heidarpour F., Ghani W. W. A. K., Fakhru'l-Razi A., Sobri S., Heydarpour V., Zargar M., Mozafari M.: Clean Technol. Environ. Policy 13, 499 (2011).
- Zodrow K., Brunet L., Mahendra S., Li D., Zhang A., Li Q., Alvarez P. J.: Water Res. 43, 715 (2009).
- Dankovich T. A., Gray D. G.: Environ. Sci. Technol. 45, 1992 (2011).
- Mpenyana-Monyatsi L., Mthombeni N. H., Onyango M. S., Momba M. N.: Int. J. Environ. Res. Public Health 9, 244 (2012).
- Ren D., Smith J. A.: Environ. Sci. Technol. 47, 3825 (2013).
- Yakub I., Soboyejo W.: J. Appl. Phys. 111, 124324 (2012).
- Das S. K., Khan M. M. R., Guha A. K., Das A. R., Mandal A. B.: Bioresour. Technol. 124, 495 (2012).
- De Gusseme B., Hennebel T., Christiaens E., Saveyn H., Verbeken K., Fitts J. P., Boon N., Verstraete W.: Water Res. 45, 1856 (2011).
- De Gusseme B., Sintubin L., Baert L., Thibo E., Hennebel T., Vermeulen G., Uyttendaele M., Verstraete W., Boon N.: Appl. Environ. Microbiol. 76, 1082 (2010).
- Blaser S. A., Scheringer M., MacLeod M., Hungerbühler K.: Sci. Total Environ. 390, 396 (2008).
- Siripattanakul-Ratpukdi S., Fürhacker M.: Water, Air, Soil Pollut. 225, 1 (2014).
- Kaegi R., Sinnet B., Zuleeg S., Hagendorfer H.,

- Mueller E., Vonbank R., Boller M., Burkhardt M.: *Environ. Pollut.* 158, 2900 (2010).
32. Benn T. M., Westerhoff P.: *Environ. Sci. Technol.* 42, 4133 (2008).
 33. Kaegi R., Voegelin A., Ort C., Sinnet B., Thalmann B., Krismer J., Hagendorfer H., Elumelu M., Mueller E.: *Water Res.* 47, 3866 (2013).
 34. Levard C., Hotze E. M., Lowry G. V., Brown Jr G. E.: *Environ. Sci. Technol.* 46, 6900 (2012).
 35. Fabrega J., Renshaw J. C., Lead J. R.: *Environ. Sci. Technol.* 43, 9004 (2009).
 36. Pavlostathis S. G., Maeng S. K.: *Environ. Toxicol. Chem.* 17, 617 (1998).
 37. Hou L., Li K., Ding Y., Li Y., Chen J., Wu X., Li X.: *Chemosphere* 87, 248 (2012).
 38. Kaegi R., Voegelin A., Sinnet B., Zuleeg S., Hagendorfer H., Burkhardt M., Siegrist H.: *Environ. Sci. Technol.* 45, 3902 (2011).
 39. Giao N. T., Limpiyakorn T., Siripattanakul-Ratpukdi S.: *Water, Air, Soil Pollut.* 223, 5197 (2012).
 40. Yuan Z., Li J., Cui L., Xu B., Zhang H., Yu C.-P.: *Chemosphere* 90, 1404 (2013).
 41. Liang Z., Das A., Hu Z.: *Water Res.* 44, 5432 (2010).
 42. Yang Y., Quensen J., Mathieu J., Wang Q., Wang J., Li M., Tiedje J. M., Alvarez P. J.: *Water Res.* 48, 317 (2014).
 43. Choi O., Deng K. K., Kim N.-J., Ross Jr L., Surampalli R. Y., Hu Z.: *Water Res.* 42, 3066 (2008).
 44. Qiu G., Wirianto K., Sun Y., Ting Y.-P.: *J. Cleaner Prod.* 130, 137 (2016).
 45. Yuan Z., Chen Y., Li T., Yu C.-P.: *Chemosphere* 93, 619 (2013).

P. Čiháková, J. Zuzáková, and J. Říhová Ambrožová (*Department of Water Technology and Environmental Engineering, Faculty of Environmental Technology, University of Chemistry and Technology Prague*): **The Use of Silver Nanoparticles in Water Treatment, Wastewater Treatment and Recycling**

The review paper deals with the use of silver nanoparticles (AgNP) in water treatment and recycling systems and the presence of AgNP in wastewater systems. In the water industry, AgNP can be used in the water treatment process as new filter materials (layers applied to the membranes of various compositions) or as a gentle alternative to the existing drinking water disinfection (solar disinfection in combination with titanium). On the other hand, AgNPs also can be a certain risk to the ecosystem if they are released from such surface-treated materials or preparations into wastewater. The AgNPs, present in the wastewater, then penetrate to the wastewater treatment plants, where they can affect the treatment process itself, especially the sensitive biological nitrification process. Silver ions with antibacterial properties are effectively removed by wastewater treatment plants and no significant negative effect on the treatment process by higher concentrations of silver has been reported so far. With respect to the bioaccumulation capabilities of nanoparticles, it is important to focus primarily on assessing of the longer-term effects of AgNP in the ecosystem and the aquatic environment.

Keywords: silver, silver nanoparticles (AgNP), silver ions, organisms, water treatment, wastewater treatment, nitrification

- Čiháková P., Zuzáková J., Říhová Ambrožová J.: *Chem. Listy* 116, 119–128 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220119>

MYKOTOXIGENNÍ RODY MIKROMYCET KONTAMINUJÍCÍ POTRAVINY A KRMIVA

MARKÉTA KULIŠOVÁ a IRENA KOLOUCHOVÁ

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

Došlo 14.6.21, přijato 16.11.21.

Klíčová slova: mykotoxiny, mikromycety, kontaminace potravin

● <https://doi.org/10.54779/chl20220129>

Obsah

1. Úvod
2. Mykotoxiny
3. Rod *Aspergillus*
 - 3.1. Aflatoxiny
 - 3.2. Ochratoxin A
4. Rod *Fusarium*
 - 4.1. Trichotheceny
 - 4.2. Fumonisin
 - 4.3. Zearalenon
5. Rod *Penicillium*
 - 5.1. Patulin
6. Rod *Alternaria*
7. Závěr

1. Úvod

Mykotoxigenní druhy hub představují významné kontaminanty potravin a krmiv. Problémem není pouze snižování kvality daných komodit, ale rovněž potenciál komplikací se samotnou bezpečností potravin. Bezpečnost potravin je ohrožena zejména kvůli produkci mykotoxinů. Tyto fungální sekundární metabolity jsou strukturně velmi rozmanité a rovněž jejich účinky na spotřebitele jsou různorodé, od akutně toxických až po chronické. Některé houby jsou schopné produkovat více než jeden druh mykotoxinů a zároveň řada mykotoxinů je produkována více druhy hub. Mezi mykotoxiny, které významně ovlivňují bezpečnost potravin a způsobující celosvětové ekonomické ztráty, patří aflatoxiny, ochratoxiny, trichotheceny, fumonisin, zearalenon, patulin a další. Producenty těchto sekundárních metabolitů jsou zejména druhy rodů *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* a *Alternaria*^{1–3}.

2. Mykotoxiny

Mykotoxiny jsou skupinou sekundárních metabolitů produkovaných vláknitými houbami, které mohou kontaminovat potraviny, krmiva či suroviny použité k jejich výrobě⁴. Všechny mykotoxiny jsou nízkomolekulární přírodní produkty tvořící toxikologicky a chemicky zcela heterogenní skupinu. Působení těchto sekundárních metabolitů může vyvolat onemocnění a případnou smrt živočichů, což je hlavní faktor spojující jednotlivé zástupce^{2,3}. Mykotoxiny je náročné klasifikovat vzhledem k jejich různorodým chemickým strukturám, biosyntetickému původu, biologickým účinkům a producentům. Nejčastěji uváděné je rozdělení podle orgánu, který ovlivňují (nefrottoxiny, hepatotoxiny, neurotoxiny atd.) či podle jejich účinku (karcinogeny, mutageny, teratogeny atd.)⁵. Stejně jako u všech toxinů, způsob expozice, dávka a doba působení toxinu determinují celkový účinek mykotoxinů⁶.

Vzhledem k faktu, že vláknité houby jsou běžné a ubikvitní mikroorganismy, mykotoxiny jsou celosvětově rozšířeny. V řadě starších studií můžeme nalézt údaj, který odhaduje zhruba 25% kontaminaci všech zemědělských plodin. Tento odhad má pocházet původně ze strany Organizace pro výživu a zemědělství (FAO), ale i přes snahu získat podklady, jak se k tomuto odhadu konkrétně došlo, není tento údaj podložen řádnými studiemi. Eskola a spol.⁷ pro upřesnění této hodnoty provedli analýzu zhruba 500 000 protokolů od Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA) a řady dalších studií stanovující obsah mykotoxinů v obilovinách. Na základě těchto podkladů bylo zjištěno, že se obsah mykotoxinů ve studovaných plodinách do značné míry liší v závislosti na sledovaných mykotoxinech či použitých analytických metodách, ale zdá se, že obsah mykotoxinů je až 60–80 %.

Produkce mykotoxinů je ovlivňována faktory prostředí, a tudíž se míra kontaminace bude lišit v závislosti na zeměpisné poloze, využitých metodách zemědělské činnosti a náchylnosti komodit k fungální kontaminaci během skladování a zpracování⁸. Kontaminace mykotoxiny byla zjištěna u obilovin, luštěnin, olejnatých semen, ale také u dalších komodit, včetně ovoce a zeleniny, které jsou bohaté na živiny a obsahují vysoký podíl vody, což jsou dva hlavní faktory ovlivňující fungální vývoj⁹. Přívodná cesta mykotoxinů do organismu je zprostředkována nejčastěji požitím kontaminovaných potravin, dermální kontaminací při kontaktu pokožky se substráty napadenými mikromycetami a kontaminací dýchacích cest inhalací spor. Po požití potravin kontaminovaných mykotoxiny se u lidí a zvířat vyskytují různé toxické účinky, včetně akutní a chronické toxicity, karcinogenity, mutagenity, teratogenity, imunosupresivních a estrogenních účinků⁵. Akutní toxicita je obvykle výsledkem krátkodobé expozice vysokým koncentracím mykotoxinů a je charakterizována náh-

lymi příznaky, jako je bolest břicha, zvracení, průjem až selhání funkce jater a ledvin. Chronická toxicita může nastat při dlouhodobém vystavení nízkým dávkám mykotoxinů. Chronickým účinkem některých mykotoxinů je podíl na vyvolání rakoviny (zejména jater), cirrhózy jater a dalších onemocnění^{10,11}. Ze studií zabývajících se intoxikací aflatoxiny v Indii a Keni ve spojitosti s konzumací kukuřice lze odhadnout hranici příjmu celkových aflatoxinů vedoucí k riziku úmrtí dospělého člověka na $>20 \mu\text{g kg}^{-1}$ tělesné hmotnosti/den (cit.¹²).

Nežádoucí účinky mykotoxinů se vyskytují již při velmi nízkých koncentracích. Z tohoto důvodu jsou mykotoxiny závažným problémem ohrožení veřejného zdraví. Celosvětově probíhá výzkum pro lepší pochopení jejich metabolismu, působení a tolerovatelného příjmu z potravy. Legislativa je v rámci EU regulována nařízením Evropské komise, kde jsou stanoveny maximální hodnoty mykotoxinů v daných komoditách a výrobcích. Základním dokumentem je konsolidované Nařízení Komise (ES) č. 1881/2006, které stanovuje maximální limity mykotoxinů v potravinách (tab. I)¹³. Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny zahrnuje mimo jiné ustanovení o provádění vyšetření a odběru vzorků pro následnou analýzu¹⁴. Dále existuje řada nařízení týkající se analýzy vzorků či stanovení zvláštních podmínek dovozu některých potravin z určitých zemí v důsledku rizika kontaminace^{15,16}. Pro ohlašování rizikových potravin a krmiv za účelem zamezení jejich uvedení do oběhu či za účelem stažení ze společného evropského trhu slouží systém RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed)¹⁷.

3. Rod *Aspergillus*

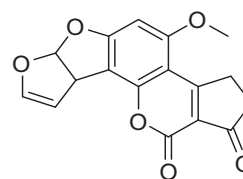
Rod *Aspergillus* je jedním z nejrozšířenějších organismů zahrnující v současné době přes 335 známých druhů¹⁸. Představuje jeden z ekonomicky nejvýznamnějších fungálních rodů díky produkci množství rozličných metabolitů. Z těchto metabolitů byla odvozena řada antibiotik, protinádorových a antifungálních látek. Druhy *Aspergillus* spp. se využívají v průmyslové výrobě sójové omáčky, miso, saké (*A. oryzae*, *A. sojae*), organických kyselin a enzymů (*A. niger*, *A. aculeatus*, *A. carbonarius*). Dva z nejdůležitějších průmyslových produktů produkovaných tímto rodem jsou amylasa a kyselina citronová¹⁹. Na druhou stranu, výskyt rodu *Aspergillus* je jednou z hlavních příčin kontaminace potravin a krmiv. Kromě toho jsou zejména druhy *A. niger*, *A. flavus* a *A. fumigatus* producenty mykotoxinů, které mohou vést ke vzniku mykotoxikóz u zvířat a lidské populace. Obecně jsou druhy rodu *Aspergillus* oportunní patogeny bez specializace na konkrétního hostitele a pouze omezený počet druhů je schopen napadnout živé tkáně²⁰. Zemědělské produkty kontaminované tímto rodem se vyznačují změnami senzorické, nutriční a kvalitativní povahy, jako je pigmentace, změna barvy, hniloba a rozvoj pachů. Kromě těchto změn je řada patogenních a saprofytických druhů schopna produkce mykotoxinů, což je nejvýznamnější důsledek jejich přítomnosti na daných

potravinách a krmivech²¹.

Hlavní mykotoxiny produkované druhy rodu *Aspergillus* jsou aflatoxiny, ochratoxin A, fumonisiny, patulin, sterigmatocystin, kyselina cyklopiazonová, kyselina penicilinová, citrinin a další. Mezi nejvýznamnější patří aflatoxiny a ochratoxin A (cit.²¹).

3.1. Aflatoxiny

Aflatoxiny (AF) jsou sekundární metabolity odvozené od deketidu produkované komplexní biosyntetickou dráhou, která vede ke čtyřem různým metabolitům – aflatoxin B₁ (obr. 1), B₂, G₁, G₂. Ze všech dosud poznáných mykotoxinů patří aflatoxiny mezi nejtoxičtější²¹. Podle klasifikace karcinogenů Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny (IARC) patří AFB₁ do skupiny 1 (prokázaný karcinogen pro člověka)²². Tento aflatoxin působí u člověka karcinogenně a toxicky zejména na játra²¹. U zvířat může konzumace krmiv s obsahem aflatoxinů vést k chronické aflatoxikóze spojené s poklesem váhy a oslabením imunitního systému²³. Pro lidské zdraví představují aflatoxiny riziko vzhledem k rozsáhlé kontaminaci zejména arašídů, ořechů, kukuřice, bavlny a sóji. Zbytky krmiv kontaminovaných aflatoxiny se mohou objevovat také v mléce. Nejdůležitější druhy produkující aflatoxiny patří do sekce *Flavi*, jedná se primárně o *A. flavus* a *A. parasiticus*²¹.



Obr. 1. Chemická struktura aflatoxinu B₁

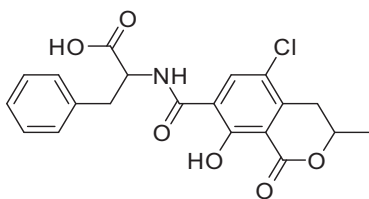
3.2. Ochratoxin A

Ochratoxin A (OTA, obr. 2) je pentaketidový mykotoxin s nefrotoxickým a karcinogenním účinkem (skupina 2B dle IARC = možný karcinogen pro člověka)²². Četné studie na zvířatech ukázaly, že OTA je silným nefrotoxinem, kde stupeň poškození ledvin závisí na dávce toxinu a době expozice²¹. Mezi kontaminované plodiny a potraviny tímto mykotoxinem patří obiloviny a výrobky z nich, rozinky, káva, víno, hroznové šťávy, pivo a řada dalších. Skrz kontaminovaná krmiva pro zvířata se mohou zbytky OTA dostat také do jedlých drobů a krevního séra daných zvířat. Samotný obsah OTA v mase, mléku a vejcích je však zanedbatelný²⁴. Ochratoxiny jsou produkovány v tropických částech světa převážně druhy rodu *Aspergillus*, zatímco řada druhů rodu *Penicillium* je odpovědná za produkci OTA v chladnějším mírném podnebí. Ekonomicky nejdůležitější producenti OTA patří do sekcí *Circumdati* a *Nigri* rodu *Aspergillus*²¹.

Tabulka I

Maximální limity mykotoxinů ve vybraných potravinách v Evropské Unii podle Nařízení Komise (ES) č. 1881/2006 (přepřacováno podle cit.¹³⁾)

| Potraviny | Maximální limity [$\mu\text{g}/\text{kg}$] | |
|---|--|---------------------|
| | B1 | suma B1, B2, G1, G2 |
| 1.1 Aflatoxiny | | |
| 1.1.1 Jádra podzemnice olejné, jež mají být před použitím k lidské spotřebě či jako potravinová složka tříděna nebo jinak fyzikálně ošetřena | 8,0 | 15,0 |
| 1.1.2 Skořápkové plody, jež mají být před použitím k lidské spotřebě či jako potravinová složka tříděny nebo jinak fyzikálně ošetřeny | 5,0 | 10,0 |
| 1.1.3 Jádra podzemnice olejné, skořápkové plody a zpracované výrobky z nich určené k přímé lidské spotřebě nebo pro použití jako potravinová složka | 2,0 | 4,0 |
| 1.1.4 Kukuřice, jež má být před použitím k lidské spotřebě či jako potravinová složka tříděna nebo jinak fyzikálně ošetřena | 5,0 | 10,0 |
| 1.2 Ochratoxin A | | |
| 1.2.1 Nezpracované obiloviny | | 5,0 |
| 1.2.2 Všechny produkty pocházející z nezpracovaných obilovin, včetně zpracovaných výrobků z obilovin a obilovin určených k přímé lidské spotřebě kromě potravin uvedených v 1.2.3 a 1.2.4 | | 3,0 |
| 1.2.3 Obilné příkrmy a ostatní příkrmy určené pro kojence a malé děti | | 0,50 |
| 1.2.4 Dietní potraviny pro zvláštní léčebné účely určené speciálně pro kojence | | 0,50 |
| 1.2.5 Sušené hrozny révy vinné (korintky, rozinky a sultánky) | | 10,0 |
| 1.3 Patulin | | |
| 1.3.1 Lihoviny, jablečné víno a jiné fermentované nápoje získané z jablek nebo obsahujících jablečnou šťávu | | 50 |
| 1.3.2 Pevné výrobky z jablek, včetně jablečného kompotu a jablečného pyré určené k přímé lidské spotřebě kromě potravin uvedených v 1.3.3 a 1.3.4 | | 25 |
| 1.3.3 Jablečná šťáva a pevné výrobky z jablek, včetně jablečného kompotu a jablečného pyré, pro kojence a malé děti, takto označené a prodávané | | 10,0 |
| 1.3.4 Jiné než obilné příkrmy pro kojence a malé děti | | 10,0 |
| 1.4 Deoxynivalenol | | |
| 1.4.1 Nezpracované obiloviny jiné než pšenice tvrdá, oves a kukuřice | | 1250 |
| 1.4.2 Nezpracovaná pšenice tvrdá, oves a kukuřice | | 1750 |
| 1.4.3 Obiloviny určené k přímé lidské spotřebě, obilná mouka (včetně kukuřičné mouky, kukuřičné krupičky a kukuřičné krupice), otruby ve formě konečného výrobku uváděného na trh pro přímou lidskou spotřebu a klíčky kromě potravin uvedených v 1.4.4 | | 750 |
| 1.4.4 Obilné příkrmy a ostatní příkrmy určené pro kojence a malé děti | | 200 |
| 1.5 Zearalenon | | |
| 1.5.1 Nezpracované obiloviny jiné než kukuřice | | 100 |
| 1.5.2 Nezpracovaná kukuřice | | 200 |
| 1.5.3 Obiloviny určené k přímé lidské spotřebě, obilná mouka, otruby ve formě konečného výrobku uváděného na trh pro přímou lidskou spotřebu a klíčky kromě potravin uvedených v 1.5.4, 1.5.5 a 1.5.6 | | 75 |
| 1.5.4 Kukuřice určená k přímé lidské spotřebě, kukuřičná mouka, kukuřičná krupička, kukuřičná krupice, kukuřičné klíčky a rafinovaný kukuřičný olej | | 200 |
| 1.5.5 Obilné příkrmy (kromě kukuřičných příkrmů) a ostatní příkrmy určené pro kojence a malé děti | | 20 |
| 1.5.6 Kukuřičné příkrmy pro kojence a malé děti | | 20 |
| 1.6 Fumonisin | | |
| 1.6.1 Nezpracovaná kukuřice | | 2000 |
| 1.6.2 Kukuřičná mouka, kukuřičná krupička, kukuřičná krupice, kukuřičné klíčky a rafinovaný kukuřičný olej | | 1000 |
| 1.6.3 Kukuřičné potraviny k přímé spotřebě kromě potravin uvedených v 1.6.2 a 1.6.4 | | 400 |
| 1.6.4 Kukuřičné příkrmy a ostatní příkrmy určené pro kojence a malé děti | | 200 |



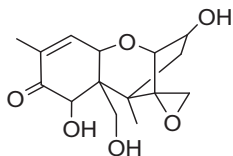
Obr. 2. Chemická struktura ochratoxinu A

4. Rod *Fusarium*

Fusarium je rodem rostlinných patogenních hub, z nichž zhruba jedna sedmina produkuje důležité mykotoxiny²⁵. Největší ekonomický dopad souvisí s deoxynivalenolem (DON, obr. 3) a jeho deriváty. Pouze aflatoxiny produkované *Aspergillus* spp. mají větší vliv na trh s potravinářskými komoditami a zdraví živočichů než DON (cit.²⁶). DON patří do skupiny trichothečenů, které jsou s fumonisiny a zearalenonem nejvýznamnějšími mykotoxiny produkovanými tímto rodem. Nejčastější výskyt fusariových mykotoxinů je v pšenici a kukuřici, mohou se však vyskytovat ve všech obilninách, chřestu, ficích, pícech, luštěninách, kořenech, ořešcích (pistácie)^{27,28}. Významná je kontaminace fusariovými mykotoxiny rovněž během procesu výroby piva²⁹. V důsledku kontaminace plodin se mykotoxiny mohou objevovat i v krmivech pro zvířata, což může negativně ovlivňovat jejich kondici³⁰. V USA v poslední době rostou obavy z obsahu fusariových mykotoxinů ve vedlejších produktech výroby ethanolu z kukuřice. Tyto produkty (nejčastěji výpalky z destilace) se z 90 % využívají právě jako krmiva zvířat a v porovnání s obilím je v nich až třikrát vyšší koncentrace mykotoxinů³¹.

4.1. Trichothečen

Z fusariových mykotoxinů jsou nejčastěji s lidskými toxikózami a zdravotními problémy hospodářských zvířat spojovány trichothečen. Strukturálně jsou to seskviterpenoidní sloučeniny s tricyklickým kruhem, který lze substituuovat v několika polohách. Trichothečenů je více než 200, rozdělených do čtyř skupin (A, B, C, D) na základě substitucí jejich struktury. Trichothečen produkované *Fusarium* spp. jsou typu A a B, typ B je obvykle produkován ve vyšších množstvích, ale je méně toxický³². T-2 toxin vykazuje u zvířat nejvyšší akutní toxicitu. Toxicita trichothece-



Obr. 3. Chemická struktura deoxynivalenolu

nů je obecně zprostředkována prostřednictvím několika mechanismů, včetně inhibice syntézy ribozomálních proteinů, biosyntézy DNA a RNA a funkce mitochondrií³³. Expozice člověka těmito metabolity ve stravě je spojena s nevolností, průjemem, bolestmi břicha a horečkou³⁴. Hlavními producenty trichothečenů z rodu *Fusarium* jsou *F. armeniacum*, *F. poae*, *F. graminearum*, *F. culmorum*³⁵.

4.2. Fumonisin

Fumonisin, polyketidové mykotoxiny, jsou nejčastějšími toxiny nalezenými v kukuřici. Producenty těchto metabolitů jsou druhy *Fusarium verticillioides*, *Fusarium proliferatum* a další druhy rodu *Fusarium*, i když menší množství fumonisinu B₂ produkuje sekce *Nigri* rodu *Aspergillus*^{35,36}. Skupina fumonisinů se skládá ze sloučenin řady A, B, C a P, z nichž nejčastější jsou B₁, B₂, B₃ (cit.³⁷). Fumonisin mají toxické a karcinogenní účinky na zvířata a člověka. Podle klasifikace karcinogenů IARC patří fumonisin B₁ a B₂ do skupiny 2B (cit.²²). Toxicita fumonisinů spočívá v jejich interakci s biosyntézou lipidů. Konkrétně inhibují ceramidsyntasu, což ústí v narušení syntézy ceramidu a sfingolipidového metabolismu. Akumulace volného sfinganinu může vést k poškození jater a ledvin³⁵.

4.3. Zearalenon

Zearalenon a jemu příbuzné sloučeniny jsou estrogení mykotoxiny s nízkou akutní toxicitou, které nezpůsobují smrtelné toxikózy. Tyto látky jsou však spojovány s významnými reprodukčními abnormalitami zvířat (zejména prasat)³⁸. Producenty zearalenonu je mnoho shodných mikromycet, které produkují DON a nivalenol, díky tomu se často vyskytují tyto tři mykotoxiny společně. *Fusarium graminearum* je jejich nejvýznamnějším producentem³⁹. Estrogení účinky zearalenonu a jeho derivátů mohou vést k reprodukčním abnormalitám, jako jsou zvětšené mléčné žlázy a genitálie, atrofie vaječnicků a varlat, neplodnost či snížená hmotnost potomků. Prasata jsou nejcitlivějšími druhy hospodářských zvířat na působení těchto mykotoxinů, konkrétně zearalenon byl objeven v souvislosti s vypuknutím estrogeního syndromu u prasat^{40,41}.

5. Rod *Penicillium*

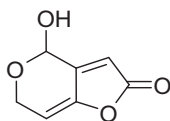
Penicillium spp. je běžným fungálním rodem vyskytujícím se po celém světě v půdě, vegetaci, vzduchu či potravinářských výrobcích. Tento rod je obecně známý zejména díky produkci penicilinu, která způsobila převrat v léčbě bakteriálních onemocnění. Druhy rodu *Penicillium* hrají důležitou roli ve výrobě sýrů typu camembert a roquefort, uzenin, rozkladu organických materiálů, hnilobě plodin a produkci různorodé škály mykotoxinů. Mezi hlavní a nejvíce škodlivé mykotoxiny produkované *Penicillium* spp. patří ochratoxin A a patulin. Dále jsou některé

druhy producenty citrininu, kyseliny penicilové, citreoviridinu a dalších⁴².

Ochratoxin A (obr. 2) je u rodu *Penicillium* produkován primárně druhy *P. verrucosum* a *P. nordicum*. *P. verrucosum* kontaminuje zejména skladované obiloviny, zatímco *P. nordicum* je hlavním producentem OTA v masných výrobcích (salámy, šunky). Oba druhy byly nalezeny také v sýrech⁴³.

5.1. Patulin

Patulin (obr. 4), genotoxický mykotoxin produkováný několika druhy rodů *Penicillium*, *Aspergillus* a *Byssoschlamys*, je nejčastějším toxinem v jablkách a produktech z nich. Kontaminuje rovněž další ovoce, jako je hroznové víno, pomeranče, hrušky a broskve. Mezi buněčné účinky patulinu patří tvorba reaktivních forem kyslíku, přerušování buněčného cyklu a uvolňování cytochromu c z mitochondrií. Způsobuje poškození DNA a je mutagenní a teratogenní. *Penicillium expansum* je nejdůležitějším zdrojem patulinu a hlavním původcem kažení jablek a hrušek. Kmeny tohoto druhu produkující patulin byly izolovány také z meruňek, moruší, třešní, kiwi, nektarinek, švestek, brusinek a jahod. Vzhledem k vysokému obsahu patulinu ve výrobcích z jablek byly Evropskou Komisí stanoveny maximální limity patulinu v těchto výrobcích⁴⁴.



Obr. 4. Chemická struktura patulinu

6. Rod *Alternaria*

Mikromycety rodu *Alternaria* jsou všudypřítomné patogeny a saprofyty, vyznačující se produkcí hnědých přehrádkovaných makrokonidií. Většina druhů tohoto rodu má ve svých buněčných stěnách a sporách obsažen vysoký podíl melaninu. Melanin chrání daný mikroorganismus před účinky UV záření a zvyšuje celkovou rezistenci vůči environmentálním faktorům⁴⁵. Vzhledem k jejich kosmopolitnímu výskytu a schopnosti růstu a produkce toxinů i za nepříznivých podmínek (nízké teploty) jsou druhy rodu *Alternaria* častou příčinou kontaminace plodin při přepravě a skladování v chladu⁴⁶.

Alternaria alternata je nejhojnějším z více než čtyřiceti druhů rodu *Alternaria*. Optimální růst tohoto druhu nastává při 25 °C a pH 4–5,4. Minimální růstová teplota je uváděna kolem –5 °C, což potvrzuje schopnost růstu při skladování v chladu⁴⁷. *Alternaria alternata* produkuje významné mykotoxiny – alternariol, alternariol monomethylether, altenuen, kyselina tenuazonová, altertoxiny I, II, III. Kyselina tenuazonová je toxická pro řadu zvířecích druhů (myši, kuřata, psi). Alternariol, alternariol monome-

thylether, altenuen a altertoxiny nevykazují přílišnou akutní toxicitu. U alternariolu a alternariol monomethyletheru byly prokázány mutagenní a genotoxické účinky. Alternariol se váže na topoisomerasu I a II, což pravděpodobně přispívá k narušení integrity DNA v buňkách savců⁴⁸.

Velké množství alternariových metabolitů se přirozeně vyskytuje v potravinářských komoditách (ovoce, zelenina, obiloviny, olejniny). Alternariol, alternariol monomethylether a kyselina tenuazonová byly často zjištěny u jablek, mandarinek, oliv, pepře, červené papriky, rajčat, řepkového šrotu, slunečnicových semen, čiroku, pšenice, olivového oleje a výrobků z jablek a rajčat. Samotný alternariol se vyskytoval v řadě džusů (jablečný, brusinkový, hroznový, švestkový, malinový), v červeném víně a čocce^{46,49}.

7. Závěr

Mezi nově se objevujícími otázkami bezpečnosti potravin má zásadní význam nárůst výskytu kontaminujících mikromycet a jejich sekundárních metabolitů mykotoxinů. Samotná fungální kontaminace znamená vysoké ekonomické ztráty, pokud se jedná o kontaminaci druhy, které produkují mykotoxiny, je zde navíc potenciál ohrožení zdraví lidské populace a zvířat. Mezi fungální rody tvořící významné mykotoxiny patří *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria* a další. Jejich výskyt v daných komoditách musí být pečlivě sledován a maximální hodnoty kontaminace těmito látkami striktně regulovány.

Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt č. A2_FPBT_2021_014.

LITERATURA

- Rico-Munoz E., Samson R. A., Houbraeken J.: *Food Microbiol.* 81, 51 (2019).
- Zain M. E.: *J. Saudi Chemical Society* 15, 129 (2011).
- Fung F., Clark R. F.: *J. Toxicol.: Clin. Toxicol.* 42, 217 (2004).
- Ashiq S.: *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 14, 159 (2015).
- Bennett J. W., Klich M.: *Clinical Microbiol. Rev.* 16, 497 (2003).
- Bennett J., Klich M., Moselio S., v knize: *Mycotoxins*, str. 559. Academic Press, Oxford 2009.
- Eskola M., Kos G., Elliott C. T., Hajšlová J., Mayar S., Krska R.: *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 60, 2773 (2020).
- Sanchis V., Magan N., v knize: *Mycotoxins in food: Detection and control*, str. 174. CRC Press, Boca Raton 2004.
- Oancea S., Stoia M.: *Universitatis Cibiensis Series E* 7, 19 (2008).
- Cinar A., Onbaşı E.: *Mycotoxins and food safety*. IntechOpen, London 2019.
- Mekuria A. N., Routledge M. N., Gong Y. Y., Sisay M.: *BMC Pharmacol. Toxicol.* 21, 1 (2020).

12. Wild C. P., Gong Y. Y.: *Carcinogenesis* 31, 71 (2010).
 13. EC: Úřední věstník Evropské unie 5 (2006).
 14. EC: Úřední věstník Evropské unie 1 (2005).
 15. EC: Úřední věstník Evropské unie 1 (2009).
 16. EC: Úřední věstník Evropské unie 1 (2006).
 17. Kowalska A., Manning L.: *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 61, 906 (2021).
 18. Gautier M., Normand A.-C., Ranque S.: *Clin. Microbiol. Infect.* 22, 662 (2016).
 19. Park H.-S., Jun S.-C., Han K.-H., Hong S.-B., Yu J.-H.: *Adv. Appl. Microbiol.* 100, 161 (2017).
 20. Liu D.: *Molecular detection of foodborne pathogens*. CRC press, Boca Raton 2009.
 21. Perrone G., Gallo A., v knize: *Mycotoxigenic fungi* (Moretti A., Susca A., ed.), str. 33 Springer, Berlin 2017.
 22. Claeys L., Romano C., De Ruyck K., Wilson H., Fervers B., Korenjak M., Zavadil J., Gunter M. J., De Saeger S., De Boevre M.: *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 19, 1449 (2020).
 23. Miller D. M., Wilson D. M., v knize: *The toxicology of aflatoxins*, str. 347. Elsevier, Amsterdam 1994.
 24. EFSA: *EFSA Journal* 4, 365 (2006).
 25. Moss M. O., Thrane U.: *Toxicol. Lett.* 153, 23 (2004).
 26. Desjardins A. E.: *Fusarium mycotoxins: chemistry, genetics, and biology*. American Phytopathological Society (APS Press), St. Paul 2006.
 27. Heraud F., Arcella D., Curtui V., Durand L., Kriulina N., Varga E.: *EFSA Journal* 11, (2013).
 28. Waśkiewicz A., Beszterda M., Goliński P.: *Food Control* 26, 491 (2012).
 29. Wolf-Hall C. E., Schwarz P. B.: *Mycotoxins and Food Safety* 504, 217 (2002).
 30. Yiannikouris A., Jouany J.-P.: *Animal Research* 51, 81 (2002).
 31. Wu F., Munkvold G. P.: *J. Agric. Food Chem.* 56, 3900 (2008).
 32. McCormick S. P., Stanley A. M., Stover N. A., Alexander N. J.: *Toxins* 3, 802 (2011).
 33. Rocha O., Ansari K., Doohan F.: *Food Addit. Contam.* 22, 369 (2005).
 34. Pestka J. J.: *Arch. Toxicol.* 84, 663 (2010).
 35. Munkvold G. P., v knize: *Mycotoxigenic fungi* (Moretti A., Susca A., ed.), str. 51. Springer, Berlin 2017.
 36. Kamle M., Mahato D. K., Devi S., Lee K. E., Kang S. G., Kumar P.: *Toxins* 11, 328 (2019).
 37. Susca A., Moretti A., Stea G., Villani A., Haidukowski M., Logrieco A., Munkvold G.: *Int. J. Food Microbiol.* 188, 75 (2014).
 38. Zinedine A., Soriano J. M., Molto J. C., Manes J.: *Food Chem. Toxicol.* 45, 1 (2007).
 39. Calori-Domingues M. A., Bernardi C. M. G., Nardin M. S., de Souza G. V., Dos Santos F. G. R., Stein M. d. A., Gloria E. M. d., Dias C. T. d. S., de Camargo A. C.: *Food Addit. Contam., Part B* 9, 142 (2016).
 40. Marasas W. F. O., Nelson P. E., Toussoun T.: *Toxigenic Fusarium species. Identity and mycotoxicology*. Pennsylvania State University, State College 1984.
 41. Ropejko K., Twaružek M.: *Toxins* 13, 35 (2021).
 42. Perrone G., Susca A., v knize: *Mycotoxigenic fungi* (Moretti A., Susca A., ed.), str. 107. Springer, Berlin 2017.
 43. Larsen T. O., Svendsen A., Smedsgaard J.: *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 3630 (2001).
 44. Reddy K., Spadaro D., Lore A., Gullino M. L., Garibaldi A.: *Mycotoxin Res.* 26, 257 (2010).
 45. Thomma B. P.: *Mol. Plant Pathol.* 4, 225 (2003).
 46. Ostry V.: *World Mycotoxin J.* 1, 175 (2008).
 47. Pitt J. I., Hocking A. D.: *Fungi and food spoilage*. Springer, Berlin 2009.
 48. Liu G., Qian Y., Zhang P., Dong Z., Shi Z., Zhen Y., Miao J., Xu Y.: *IARC Sci. Publ.* 105, 258 (1991).
 49. Scott P. M.: *J. AOAC Int.* 84, 1809 (2001).
- M. Kulišová and I. Kolouchová** (*Department of Biotechnology, University of Chemistry and Technology, Prague*): **Mycotoxigenic Genera of Micromycetes Contaminating Food and Feed**
- Mycotoxins and their impact on human health, food safety and significant economic losses have recently been a discussed problem. The most important of these secondary metabolites produced by filamentous fungi include aflatoxins, ochratoxin A, *Fusarium* mycotoxins, patulin and others. Mycotoxigenic fungi are cosmopolitan microorganisms and therefore thorough sanitation and control of limits of mycotoxins in all steps of food production and storage is crucial.
- Keywords: mycotoxins, filamentous fungi, food contamination
- Kulišová M., Kolouchová I.: *Chem. Listy* 116, 129–134 (2022).
 - <https://doi.org/10.54779/chl20220129>
- Acknowledgements*
This work was supported from the grant of Specific university research – grant No. A2_FPBT_2021_014.

PŮVODNÍ A METODICKÉ PRÁCE

ZELENÁ SYNTÉZA STRIEBORNÝCH NANOČASTÍC A ICH ANTIBAKTERIÁLNA AKTIVITA

ĽUDMILA BALÁŽOVÁ^a, ANNA ČIŽMÁROVÁ^a,
MATEJ BALÁŽ^b, NINA DANEU^c, ANETA
SALAYOVÁ^d, ZDENKA BEDLOVIČOVÁ^d
a ĽUDMILA TKÁČIKOVÁ^e

^a Katedra farmaceutickej technológie, farmakognózie a botaniky, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovensko,

^b Ústav geotechniky, Oddelenie mechanochémie, Slovenská akadémia vied, Watsonova 45, 040 01 Košice, Slovensko,

^c Advanced Materials Department, Jozef Štefan Institute, Jamova 39, 1000 Ljubljana, Slovinsko, ^d Katedra chémie, biochémie a biofyziky, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovensko, ^e Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 04181 Košice, Slovensko
ludmila.balazova@uvlf.sk

Došlo 9.6.21, prijaté 10.11.21.

Kľúčové slová: nanočastice, striebro, zelená syntéza, *Thymus serpyllum* L., *Thymus vulgaris* L., *Sambucus nigra* L.

• <https://doi.org/10.54779/chl20220135>

Úvod

V posledných rokoch sa stále viac upriamuje pozornosť na využitie nanotechnológií a nanočastíc (NP) v rôznych oblastiach života. Syntéza NP môže prebiehať fyzikálnymi, chemickými a biologickými metódami^{1–3}. Avšak syntéza s využitím fyzikálnych a chemických metód predstavuje environmentálnu záťaž⁴. Ekologickejšia biologická syntéza NP je sprostredkovaná rôznymi biologickými činiteľmi (baktérie, mikromycéty, kvasinky, vírusy, riasy, rastliny a rastlinné extrakty^{5–7}). Využívajú sa rastliny a rastlinné extrakty, ktoré obsahujú zlúčeniny schopné redukcie, napríklad fenoly, flavonoidy, terpenoidy alebo sacharidy. Pri biosyntéze Ag NP dochádza k redukcii iónu Ag⁺ na elementárne striebro Ag⁰ obsahovými látkami rastlín⁸. Autori opísali viac ako sto rôznych zdrojov rastlinných extraktov na syntézu Ag NP^{8–10}. Nanočastice striebra patria medzi najznámejšie a najpoužívanejšie kovové nanočastice s antimikrobiálnymi účinkami⁵. Pôsobenie Ag NP je bez toxického vplyvu na ľudské bunky, pričom sú

schopné antimikrobiálneho účinku a inhibujú rast baktérií aj pri nízkych koncentráciách (v mg l⁻¹)^{11–13}.

V našej práci sme sa usilovali prispieť k oblasti zelenej syntézy nanočastíc prípravou strieborných nanočastíc biosyntetickou cestou použitím rastlinného extraktu *Thymus vulgare* L., *Thymus serpyllum* L., *Sambucus nigra* L. a AgNO₃. Syntéza bola monitorovaná použitím UV-Vis spektroskopie a pripravené Ag NP boli sledované transmisnou elektrónovou mikroskopiou. Praktické využitie pripravených Ag NP bolo zamerané na stanovenie ich antibakteriálnej aktivity.

Experimentálna časť

Chemikálie a rastlinný materiál

Pri syntéze bol použitý dusičnan strieborný (AgNO₃ (99,8 %), Mikrochem, Slovensko), listy čajoviny dúšky tymianovej (*Thymus vulgare* L.) (Juvamed, Slovensko), vňať čajoviny dúšky materinej (*Thymus serpyllum* L.) (Juvamed, Slovensko) a kvety čajoviny bazy čiernej (*Sambucus nigra* L.) (Juvamed, Slovensko).

Syntéza strieborných nanočastíc

Extrakty boli pripravené zmiešaním 600 mg sušenej drogy a 12 ml destilovanej vody, ktoré sa macerovali 2 hodiny pri laboratórnej teplote. Pri syntéze sme použili 2mM vodný roztok dusičnanu strieborného, ktorý sa zmiešal s extraktom rastlín v pomere 9:1. Syntéza prebiehala pri teplotách 50, 60, 70 a 90 °C využitím Peltierovho bloku. Vyhrievaný Peltierov blok je súčasťou UV-Vis spektrofotometra Cary 60 (Agilent Technologies, USA), takže bolo možné kontinuálne sledovať syntézu Ag NP.

Charakterizácia nanočastíc

UV-Vis spektroskopie

Proces syntézy Ag NP bol sledovaný *in situ* v minútových intervaloch využitím UV-Vis spektrofotometra Cary 60 (Agilent Technologies, USA) s Peltierovým blokom, pričom absorpčné spektrá boli zaznamenané v rozmedzí od 350 do 700 nm v kremennej kyvete (10 mm).

Transmisná elektrónová mikroskopie

Veľkosť, tvar a chemické zloženie Ag NP boli analyzované pomocou transmisnej elektrónovej mikroskopie (TEM) s použitím mikroskopu JEM 2100 (JEOL, Japonsko) pracujúcom pri napätí 200 kV. Súčasne bola použitá metóda SAED (selected area diffraction).

Antibakteriálna aktivita

Testovanie antibakteriálnych vlastností bolo uskutočnené platňovou agarovou difúznou metódou¹⁴. Aktivita bola testovaná na kmeňoch baktérií *Staphylococcus aureus* CCM 4223 (SA) a *Escherichia coli* CCM 3988 (EC). Destilovaná voda bola použitá ako negatívna kontrola a gentamicín-sulfát (Sigma-Aldrich, USA) s koncentráciou 10 mM ako pozitívna kontrola. Platne boli inkubované pri teplote 37 °C počas 24 hodín. Po inkubácii boli z fotografických záznamov vyhodnotené veľkosti inhibičných zón pomocou softvéru ImageJ.

Antibakteriálny účinok vzoriek bol prepočítaný podľa vzorca¹⁴:

$$\% \text{ RIZD} = \left[\frac{\text{IZD}_{\text{vzorka}} - \text{IZD}_{\text{negatívna kontrola}}}{\text{IZD}_{\text{gentamicín}}} \right] \times 100$$

kde RIZD vyjadruje % priemernej relatívnej inhibičnej zóny a IZD je priemer inhibičnej zóny v mm.

Výsledky a diskusia

V priebehu syntézy sme zaznamenali vizuálnu zmenu spôsobenú vznikajúcimi Ag NP. Nanočastice sfarbili roztok z počiatočnej hnedožltej farby až na tmavohnedú. V obr. 1 môžeme vidieť Vis spektrá pre syntézu Ag NP pre sledované teploty 50, 60, 70 resp. 90 °C. Nárast absorbcie prebieha pri všetkých vlnových dĺžkach, najmä však okolo 450 nm. Syntézu sme považovali za ukončenú, keď už nedochádzalo k nárastu absorbcie.

Biosyntézu s extraktom dúšky tymianovej sme monitorovali pri teplote 50 °C až 100 minút (obr. 1a). Reakčná rýchlosť bola najvyššia na začiatku v prvých minútach syntézy. Ani po 100 min nebola syntéza stále ukončená, aj keď jej priebeh sa spomaľoval približne od 60 min. Zvýšenie teploty na 60 °C rýchlosť syntézy výrazne urýchlilo (obr. 1b). Po 15 min už k výraznejšiemu nárastu absorbcie nedochádzalo, a preto je možné považovať syntézu Ag NP za ukončenú. V snahe ďalšieho urýchlania syntézy sme reakciu realizovali aj pri teplote 70 °C (obr. 1c). Reakcia mala veľmi rýchly priebeh a syntéza bola ukončená už po 7 min. Najvyhovujúcejšia teplota na syntézu Ag NP z extraktu dúšky tymianovej z hľadiska sledovania priebehu syntézy je 60 °C.

Syntéza Ag NP pri použití extraktu materej dúšky (*Thymus serpyllum* L.) prebiehala pri teplote 60 °C veľmi rýchlo (6 min) (obr. 1d). Syntézu Ag NP pri použití extraktu bazy čiernej pri 60 °C nebolo možné pozorovať, pretože v UV-Vis spektre ani po 30 min nedochádzalo k nárastu absorbcie v oblasti okolo 450 nm (obr. 1e). Zvýšením teploty na 90 °C sa absorbcia v želanej oblasti zvyšovala (obr. 1f). Syntéza bola ukončená v čase do 8 min, keď už viac nedochádzalo k nárastu absorbcie.

Rýchlosť syntézy Ag NP je rozdielna v závislosti od jednotlivých rastlinných extraktov a tiež je výrazne ovplyvnená teplotou.

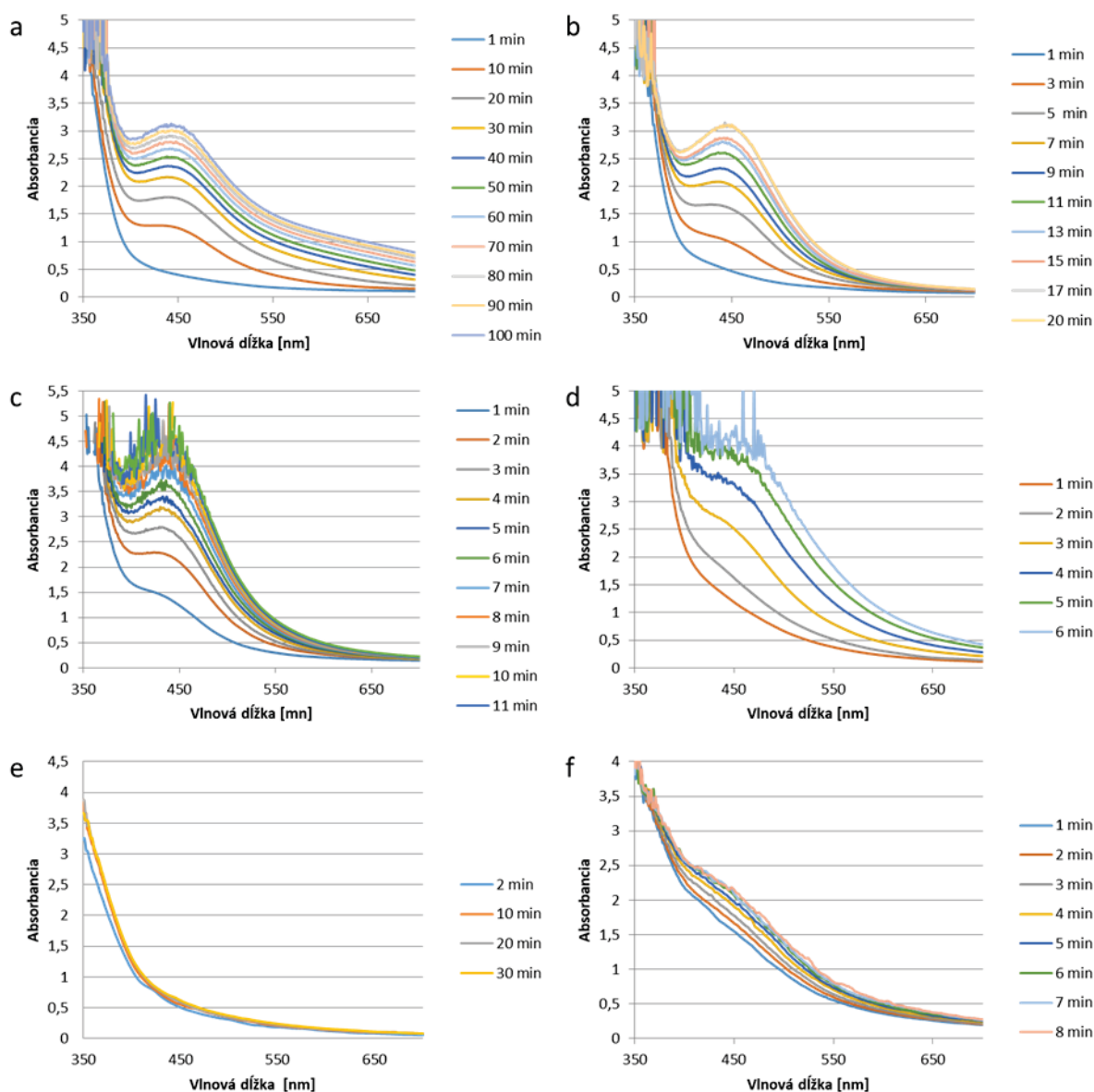
Počas biosyntézy Ag NP sme pozorovali farebné zmeny v závislosti od času, konkrétne sa farba menila z hnedožltej na tmavohnedú. Subjektívne vizuálne pozorovanie bolo podoporené spektrofotometrickým meraním

absorbancie⁶. Spektrofotometrické meranie priebehu syntézy Ag NP pomocou *Thymus vulgaris* L. ukázalo, že teplota nemala vplyv na polohu absorbčných maxím. Pri teplote 50 °C bolo maximum totožné ako pri teplote 70 °C, konkrétne 440 nm. Pri teplote 60 °C bol rozdiel len 2 nm, keďže maximum plazmového píku malo hodnotu 442 nm. Maximálna absorbcia u ďalších sledovaných vzoriek dosahovala hodnotu 469 nm pre *Thymus serpyllum* L. pri 60 °C a 466 nm pre *Sambucus nigra* L. Nanočastice striebra pripravené pomocou katódového naprašovania do glycerolu mali maximum absorbcie pri vlnovej dĺžke okolo 425 nm (cit.¹). Pri mechanochemickej syntéze s totožnou rastlinou ako v našej práci (*Thymus vulgaris* L.), boli identifikované dve maximá absorbcie: pri 452 nm, čo zodpovedá rastlinnej matici, a pri 454 nm pre Ag NP (cit.¹⁵). V prípade ďalších dvoch rastlín (*Thymus serpyllum* L. a *Sambucus nigra* L.) bolo identifikované iba jedno maximum prislúchajúce povrchovej plazmónovej rezonancii charakteristické pre Ag NP, s maximami absorbcie získanými pri 440 nm pre Ag: *Thymus serpyllum* L. a 436 nm pre Ag: *Sambucus nigra* L. (cit.¹⁵). V našej práci bol u všetkých sledovaných vzoriek identifikovaný len jeden vrchol absorbcie, ktorý zodpovedal Ag NP. Heidari a spol.¹⁶ uviedli absorbciu pri 440 nm pri použití rastliny *Thymus vulgaris* L. Erci a Torlak¹⁷ uvádzajú absorpčný vrchol pre Ag NP pripravené pomocou *Thymus serpyllum* L. pri 467 nm. Absorpčné maximum pre systém Ag: *Sambucus nigra* L. je v našom prípade o niečo vyššie na vlnovej dĺžke, ako uvádza Moldovan a spol.¹⁸ (407 nm).

Transmisná elektrónová mikroskopia predstavuje výborný nástroj na sledovanie morfológie a potvrdenie tvorby strieborných nanočastíc (obr. 2). Z TEM mikrogrfov vzoriek pripravených pomocou dúšky tymianovej a bazy čiernej vyplýva, že v oboch prípadoch mali pripravené Ag NP veľkosť buď v rozmeroch desiatok nm (najčastejšie okolo 30 nm) alebo boli menšie ako 10 nm. V oboch prípadoch majú nanočastice najmä pyramidálny tvar, v prípade bazy sme však pozorovali aj trigonálne častice (napr. v ľavej dolnej časti obr. 2a). TEM analýza s vysokým rozlíšením (HRTEM) potvrdila prítomnosť aj veľmi malých častíc s rozmermi v jednotkách nm (viď obr. 2b a d).

Na potvrdenie prítomnosti nanočastíc striebra v elementárnej forme sme použili metódu difrakcie vybranej oblasti (SAED) (obr. 3). Koncentrické kružnice predstavujú jednotlivé kryštalografické roviny v kryštáloch elementárneho striebra. Pre najintenzívnejšiu kružnicu sme získali medzirovinnú vzdialenosť zhruba 0,24 nm, čo zodpovedá rovine 100 a je v súlade s kryštalografickou databázou. Vypočítaná medzirovinná vzdialenosť bola takmer úplne totožná u oboch pripravených Ag NP. Okrem signálov pre elementárne striebro sme iné kryštalografické fázy nepozorovali.

Distribúcia veľkosti získaných nanočastíc je v súlade s inými prácami, kde boli taktiež pozorované väčšie aj menšie častice (tzv. bimodálna distribúcia)^{6,9,19}. Obdobné výsledky boli aj v prípade mechanochemickej syntézy za využitia rovnakých rastlín¹⁵. V prípade SAED analýzy Ag nanočastíc pripravených pomocou tých istých rastlín



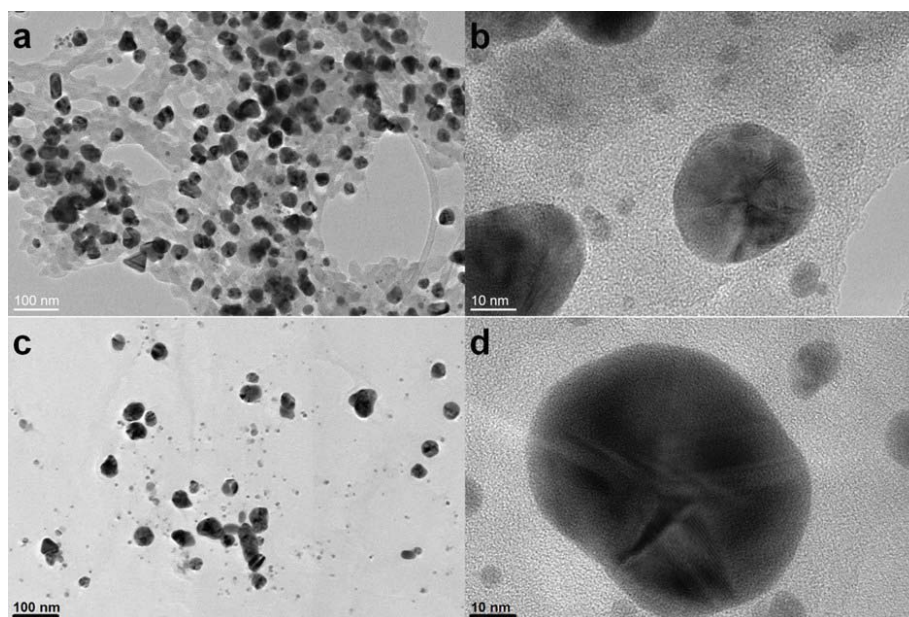
Obr. 1. Graf z Vis spektrofotometrie zobrazujúci priebeh zelenej syntézy Ag NP v závislosti od času/v jednotlivých časových intervaloch použitím extraktu *Thymus vulgaris* L. pri 50 °C (a), *Thymus vulgaris* L. pri 60 °C (b), *Thymus vulgaris* L. pri 70 °C (c), *Thymus serpyllum* L. pri 60 °C (d), *Sambucus nigra* L. pri 60 °C (e) a *Sambucus nigra* L. pri 90 °C (f). (Farebná verzia obrázku je dostupná na webových stránkach časopisu Chemické listy)

boli pri dúske tymianovej pozorované aj difrakcie pre chlorid strieborný (AgCl), avšak nie pri baze čiernej¹⁵. V našom prípade sa prítomnosť AgCl nepotvrdila ani v jednej vzorke.

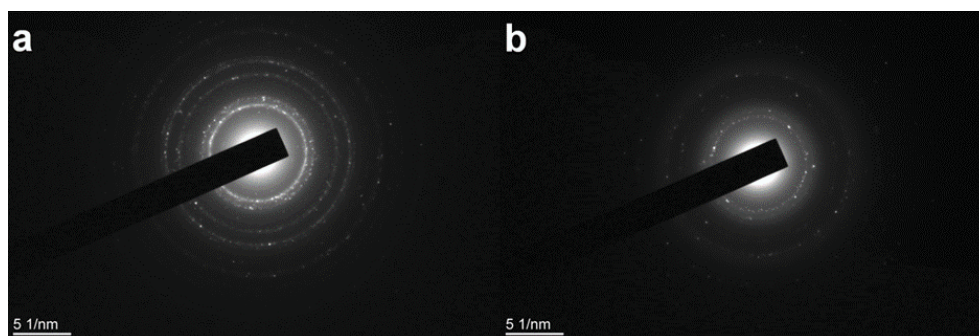
Na stanovenie antibakteriálnej aktivity Ag NP bola antibakteriálna aktivita testovaná voči *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus* (tab. I). Pre odlišenie antimikrobiálneho účinku samotného extraktu a nanočastíc pripravených z extraktu bola sledovaná aj aktivita čistých extrakt-

ov. Žiadny sledovaný vodný extrakt *Thymus vulgaris* L., *Thymus serpyllum* L. a *Sambucus nigra* L. nepôsobil antibakteriálne.

Cioch a spol.²² použili etanolové, metanolové a vodné extrakty z plodu bazy čiernej (*Sambucus nigra* L.) a ďalších rastlín. Výťažky vykazovali antimikrobiálnu aktivitu na analyzovaných bakteriálnych kultúrach²². Inhibičná aktivita bola pozorovaná v prípade extraktu z bazy čiernej voči *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*



Obr. 2. TEM mikrografy pre Ag NP pripravené pomocou vodných extraktov bazy čiernej (a, b) a dúšky tymianovej (c, d). Mikrografy pri menšom (a, c) a väčšom (b, d) priblížení



Obr. 3. Obrázky difrakcie z vybranej oblasti (SAED) pre Ag NP pripravené pomocou vodných extraktov bazy čiernej (a) a dúšky tymianovej (b)

a *Pseudomonas fluorescens*²³. Aj keď niektoré štúdie uvádzajú antimikrobiálny účinok *Sambucus nigra* L., *Thymus vulgaris* L. a *Thymus serpyllum* L., v našej práci sa nepotvrdil. Dôvodom môže byť nižšia koncentrácia, použité odlišné časti rastliny (plody bazy namiesto kvetov) a iné extrakčné činidlá.

Antibakteriálne účinky boli pozorované pre Ag NP pripravené rôznymi metódami. Najčastejší mechanizmus antibakteriálnej aktivity Ag nanomateriálov je založený na princípe povrchovej interakcie nanočastíc s bunkami baktérií alebo pôsobením Ag^+ iónov vznikajúcich počas rozpúšťania Ag^0 nanoštruktúr¹⁰. Zvyšovanie koncentrácie voľných radikálov v prostredí je ďalším potenciálnym mechanizmom narušovania mikrobiálnych bunkových membrán a vnútorných štruktúr²⁴. Mnohoraký mechanizmus antibakteriálneho účinku strieborných nanočastíc

eliminuje možnosť vzniku bakteriálnej rezistencie²⁵. Antibakteriálna aktivita môže byť závislá od koncentrácie striebra^{26,27}. Efekt Ag NP na pôdne mikrobiálne spoločenstvo bol dávkovo závislý²⁸. V prípade *Bacteroidetes* bol sledovaný stúpajúci dávkovo závislý efekt. Avšak pri rode *Firmicutes* bol antibakteriálny efekt opačný, t. j. so stúpajúcou koncentráciou klesal²⁸. Rozhodujúca je aj veľkosť danej nanočastice, pretože čím je nanočastica menšia, tým väčší je jej povrch, ktorý môže špecificky interagovať s cieľovými štruktúrami^{13,26}.

Naše výsledky antibakteriálnej aktivity ukazujú, že zo všetkých sledovaných vzoriek jedine nanočastice striebra pripravené pomocou extraktu bazy čiernej vykazovali antibakteriálnu aktivitu voči gram-pozitívnym a gram-negatívnym baktériám.

Tabuľka I
Výsledky antimikrobiálnej aktivity

| | IZD ^a | | | | RIZD ^a | | RIZD [%] ^a | | |
|-------------------------------------|------------------|-----|-----|---------|-------------------|---------|-----------------------|---------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | priemer | STDEV | priemer | STDEV | priemer | STDEV |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | | | | | | | | | |
| <i>Thymus vulgaris</i> L. | n | n | n | n | | n | | n | |
| <i>Thymus serpyllum</i> L. | n | n | n | n | | n | | n | |
| <i>Sambucus nigra</i> L. | n | n | n | n | | n | | n | |
| Ag NP z <i>Thymus vulgaris</i> L. | n | n | n | n | | n | | n | |
| Ag NP z <i>Thymus serpyllum</i> L. | n | n | n | n | | n | | n | |
| Ag NP z <i>Sambucus nigra</i> L. | 1 | 1,1 | 1 | 1 | 0,1 | 0,67 | 0,07 | 67 | 7 |
| gentamicín | 1,3 | 1,3 | 1,4 | 1,3 | 0,1 | | | | |
| <i>Escherichia coli</i> | | | | | | | | | |
| <i>Thymus vulgaris</i> L. | n | n | n | n | | n | | n | |
| <i>Thymus serpyllum</i> L. | n | n | n | n | | n | | n | |
| <i>Sambucus nigra</i> L. | n | n | n | n | | n | | n | |
| Ag NP z <i>Thymus vulgaris</i> L. | n | n | n | n | | n | | n | |
| Ag NP z <i>Thymus serpyllum</i> L. | n | n | n | n | | n | | n | |
| Ag NP z <i>Sambucus nigra</i> L. | 1 | 1 | 0,9 | 0,9 | 0,1 | 0,62 | 0,09 | 62 | 9 |
| gentamicín | 1,2 | 1,2 | 1,0 | 1,2 | 0,1 | | | | |

^a n – nezdetekovaná antibakteriálna aktivita, RIZD vyjadruje % priemernej relatívnej inhibičnej zóny, IZD je priemer inhibičnej zóny v mm, STDEV je standard deviation (smerodajná odchýlka)

Komerčne pripravený strieborný nanoprášok mal schopnosť redukovat' rast kolónií *E. coli* a *S. aureus*²⁹. Ag NP boli pripravené zelenou syntézou aj z extraktu listov *Thymus serpyllum* L. Proti baktériám *Bacillus cereus*, *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella enterica serovar Typhimurium* vykazovali silnejšiu antibakteriálnu aktivitu na gram pozitívne ako na gram negatívne baktérie³⁰. Aj v našom prípade bol pozorovaný silnejší účinok Ag NP pripravených pomocou bazy čiernej na gram-pozitívnu baktériu. Odlišný účinok môže byť na základe štruktúrálnej rozdielnosti v kompozícii bunkovej steny gram-negatívnych a gram-pozitívnych baktérií.

Záver

Biosyntetickou cestou sme pripravili Ag NP s použitím rastlinných extraktov. UV-Vis spektroskopcia ukázala, že priebeh syntézy bol veľmi rýchly (do 8 min) pri extrakte bazy čiernej pri teplote 90 °C. Vznik Ag NP bol potvrdený pomocou TEM. Zistili sme, že v prípade dúšky tymianovej (*Thymus vulgare* L.) a bazy čiernej (*Sambucus nigra* L.) mali pripravené Ag NP veľkosť v rozmeroch desiatok nm (najčastejšie okolo 30 nm) alebo boli menšie ako 10 nm. Antibakteriálnu aktivitu vykazovali Ag NP pripravené pomocou extraktu bazy čiernej voči gram pozitívnym a gram-negatívnym baktériám.

V našej práci sme sa pokúsili poukázať na možnosť syntézy NP použitím metódy, ktorá je časovo aj cenovo výhodná, ale hlavne nepredstavuje environmentálnu záťaž pre životné prostredie. Z našich výsledkov je zrejmé, že takto pripravené Ag NP majú široké uplatnenie a sú relevantným príspevkom k danej problematike biosyntézy nanočastíc.

Vypracované s finančnou podporou Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky v rámci Agentúry na podporu výskumu a vývoja (APVV-18-0357) a Vedeckej grantovej agentúry VEGA (2/0044/18).

LITERATÚRA

1. Siegel J., Staszek M., Kaimlová M., Švorčík V.: Chem. Listy 114, 41 (2020).
2. Baláž M., Balážová L., Daneu N., Dutková E., Balážová M., Bujňáková Z., Shpotyuk Y.: Nanoscale Res. Lett. 12, 83 (2017).
3. Shalabayev Z. a 10 spoluautorov: ACS Sust. Chem. Eng. 7, 12897 (2019).
4. Baláž M., Daneu N., Balážová L., Dutková E., Tkáčiková E., Briančin J., Vargová M., Balážová M., Zorkovská A., Baláž P.: Adv. Powder Technol. 28, 3307 (2017).
5. Miškovská A., Čejková A.: Chem. Listy 115, 422 (2021).

6. Baláž M., Balážová E., Kováčová M., Daneu N., Salayová A., Bedlovičová Z., Tkáčiková E.: *Adv. Nano Res.* 7, 125 (2019).
 7. Kharissova O. V., Dias H. V. R., Kharisov B. I., Perez B. O., Perez V. M. J.: *Trends Biotechnol.* 31, 240 (2013).
 8. Salayová A., Bedlovičová Z., Daneu N., Bujňáková Z., Balážová E., Tkáčiková E., Baláž M.: *Nanomaterials* 11, 1005 (2021).
 9. Baláž M., Goga M., Hegedüs M., Daneu N., Kováčová M., Tkáčiková E., Balážová E., Bačkor M.: *ACS Sust. Chem. Eng.* 8, 13945 (2020).
 10. Rajeshkumar S., Bharath L. V.: *Chem. Biol. Interact.* 273, 219 (2017).
 11. Carlson C., Hussain S. M., Schrand A. M., Braydich-Stolle L. K., Hess K. L., Jones R. L., Schlager J. J.: *J. Phys. Chem. B* 112, 13608 (2008).
 12. AshaRani P. V., Mun G. L. K., Hande M. P., Valiya-veetil S.: *Acs Nano* 3, 279 (2009).
 13. Panáček A., Kvítek L., Pucek R., Kolář M., Večeřová R., Pizúrová N., Sharma V. K., Nevěčná T., Zbořil R.: *J. Phys. Chem. B* 110, 16248 (2006).
 14. Rojas J. J., Ochoa V. J., Ocampo S. A., Muñoz J. F.: *BMC Complementary Altern. Med.* 6, 2 (2006).
 15. Kováčová M., Daneu N., Tkáčiková E., Dutkova E., Lukáčová Bujňáková Z., Baláž M.: *Nanomaterials* 10, 2119 (2020).
 16. Heidari Z., Salehzadeh A., Shandiz S. A. S., Tajdoost S.: *3 Biotech* 8, art. ID 177 (2018).
 17. Erci F., Torlak E.: *Sakarya University Journal of Science* 23, 333 (2019).
 18. Moldovan B., David L., Achim M., Clichici S., Filip G. A.: *J. Mol. Liq.* 221, 271 (2016).
 19. Baláž M., Bedlovičová Z., Kováčová M., Salayová A., Balážová E., v knize: *Nanostructures for Antimicrobial and Antibiofilm Applications. Nanotechnology in the Life Sciences.* (Prasad R., Siddhardha B., Dya-vaiah M., ed.), kap. 7, str. 145. Springer, Cham 2020.
 20. Abu-Darwish M. S., Al-Ramamneh E. A. M., Kyslychenko V. S., Karpiuk U. V.: *Pak. J. Pharm. Sci.* 25, 239 (2012).
 21. Kerekes E. B., Vidacs A., Tako M., Petkovits T., Vagvolgyi C., Horvath G., Balazs V. L., Krisch J.: *Microorganisms* 7, 345 (2019).
 22. Cioch M., Satora P., Skotniczny M., Semik-Szczurak D., Tarko T.: *Pol. J. Microbiol.* 66, 463 (2017).
 23. Rodino S., Butu A., Butu M., Cornea P. C.: *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* 10, 947 (2015).
 24. Michailidu J., Miškovská A.: *Chem. Listy* 114, 823 (2020).
 25. Kaimlová M., Švorčík V., Siegel J.: *Chem. Listy* 114, 395 (2020).
 26. Morones J. R., Elechiguerra J. L., Camacho A., Holt K., Kouri J. B., Ramírez J. T., Yacaman M. J.: *Nanotechnology* 16, 2346 (2005).
 27. Kim J. S. a 13 spoluautorov: *Nanomedicine- Nanotechnology Biology and Medicine* 3, 95 (2007).
 28. Macůrková A. a 11 spoluautorov: *Applied Soil Ecology* 168, 104165 (2021).
 29. Smetana A. B., Klabunde K. J., Marchin G. R., Sorensen C. M.: *Langmuir* 24, 7457 (2008).
 30. Jafari A., Pourakbar L., Farhadi K., Mohamadgolizad L., Goosta Y.: *Turk. J. Biol.* 39, 556 (2015).
- E. Balážová^a, A. Čižmárová^a, M. Baláž^b, N. Daneu^c, A. Salayová^d, Z. Bedlovičová^d, and E. Tkáčiková^e** (^a Department of Pharmaceutical Technology, Pharmacognosy and Botany, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Slovakia, ^b Department of Mechanochemistry, Institute of Geotechnics, Slovak Academy of Sciences, Košice, Slovakia, ^c Advanced Materials Department, Jozef Štefan Institute, Ljubljana, Slovinsko, ^d Department of Chemistry, Biochemistry and Biophysics, Institute of Pharmaceutical Chemistry, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Slovakia, ^e Department of Microbiology and Immunology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Slovakia): **Green Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Activity**
- Silver nanoparticles (Ag NPs) could be prepared by effective and simple biosynthesis by using plant extracts. Water extracts from *Thymus serpyllum* L., *Thymus vulgaris* L., and *Sambucus nigra* L. were used for a green synthesis of Ag NPs. Progress of the syntheses, the structure of Ag NPs and their antibacterial activity were followed by UV-Vis spectroscopy, TEM analysis and agar well diffusion method. UV-Vis analysis showed that the reactions performed with various plants extracts need different temperatures (60–90 °C) to synthesize Ag NPs. The NPs prepared were approx. 30 nm in size, but Ag NPs smaller than 10 nm were detected, too. Pure plant extracts without nanoparticles had no antibacterial activity. Of the Ag NPs-containing samples, only those prepared by using extract from *Sambucus nigra* L. showed antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Green synthesis is a promising way to prepare NPs with biological activities.
- Keywords: nanoparticles, silver, green synthesis, *Thymus serpyllum* L., *Thymus vulgaris* L., *Sambucus nigra* L.
- Balážová E., Čižmárová A., Baláž M., Daneu N., Salayová A., Bedlovičová Z., Tkáčiková E.: *Chem. Listy* 116, 135–140 (2022).
 - <https://doi.org/10.54779/chl20220135>
- Acknowledgement*
This work was supported by Slovak Research and Development Agency under the contract No. APVV-18-0357 and Slovak Grant Agency VEGA (2/0044/18).



Cena Rudolfa Lukeše

za excelentní chemii

osobní
prémie

100 000
Kč

za
soubor
prací

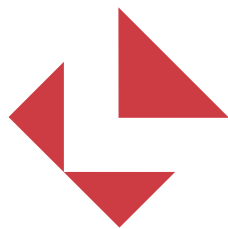
Jste vědcem/vědkyní v oboru
organické, bioorganické
a medicínální chemie a působíte
na některém z českých pracovišť?

přihlaste se do
31. března 2022

www.experientia.cz

eXperientia
NADACE





LABOREXPO

1.-2. 6. 2022

PVA EXPO PRAHA - LETŇANY



- KOMPLETNÍ VYBAVENÍ PRO LABORATOŘE
- WORKSHOPY A PRODUKTOVÉ PREZENTACE
- ANALÝZY VZORKŮ A MOBILNÍ LABORATOŘE
- MOŽNOST NAVŠTÍVIT VELETRH VĚDY

ORGANIZÁTOR
CHEMAGAZÍN

MÍSTO KONÁNÍ
PVA
EXPO PRAHA



OBSAH**ÚVODNÍK**

100 let od zrodu polarografie 97
J. Barek

Pojďme tvořit grafické abstrakty 99
M. Jurášek, E. Benešová a V. Vyskočil

REFERÁTY

Neurohypofyzární peptidy v lékařství z pražských a švédských laboratoří. Část II: desmopressin, terlipressin, carbetocin – farmakologie a klinické aplikace 101
V. Pliska, A. Pařízek a M. Flegel

Úložný obalový soubor pro vyhořelé jaderné palivo 110
J. Rejková, J. Macák a L. Nachmilner

O hormonu mládí 115
M. Jurášek, L. Stárka a P. Drašar

Využití nanočástic stříbra při úpravě, čištění a recyklaci vod 119
P. Čiháková, J. Zuzáková a J. Říhová Ambrožová

Mykotoxigenní rody mikromycet kontaminující potraviny a krmiva 129
M. Kulišová a I. Kolouchová

PŮVODNÍ A METODICKÉ PRÁCE

Zelená syntéza stříborných nanočástic a ich antibakteriální aktivita 135
E. Balážová, A. Čižmárová, M. Baláž, N. Daneu, A. Salayová, Z. Bedlovičová a E. Tkáčiková

CONTENTS**EDITORIAL**

100 Years Since the Discovery of Polarography 97
J. Barek

Let's Create Graphical Abstracts 99
M. Jurášek, E. Benešová, and V. Vyskočil

REVIEW ARTICLES

Neurohypophyseal Peptides from Prague and Swedish Laboratories Used as Pharmaceuticals. Part 2: Desmopressin, Terlipressin, Carbetocin – Pharmacology and Clinical Applications 101
V. Pliska, A. Pařízek, and M. Flegel

The Waste Disposal Package for Spent Nuclear Fuel 110
J. Rejková, J. Macák, and L. Nachmilner

About the Hormone of Youth 115
M. Jurášek, L. Stárka, and P. Drašar

The Use of Silver Nanoparticles in Water Treatment, Wastewater Treatment and Recycling 119
P. Čiháková, J. Zuzáková, and J. Říhová Ambrožová

Mycotoxigenic Genera of Micromycetes Contaminating Food and Feed 129
M. Kulišová and I. Kolouchová

ORIGINAL AND METHODOLOGICAL PAPERS

Green Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Activity 135
E. Balážová, A. Čižmárová, M. Baláž, N. Daneu, A. Salayová, Z. Bedlovičová, and E. Tkáčiková



experientia
NADACE

vycestujte na zahraniční stáž

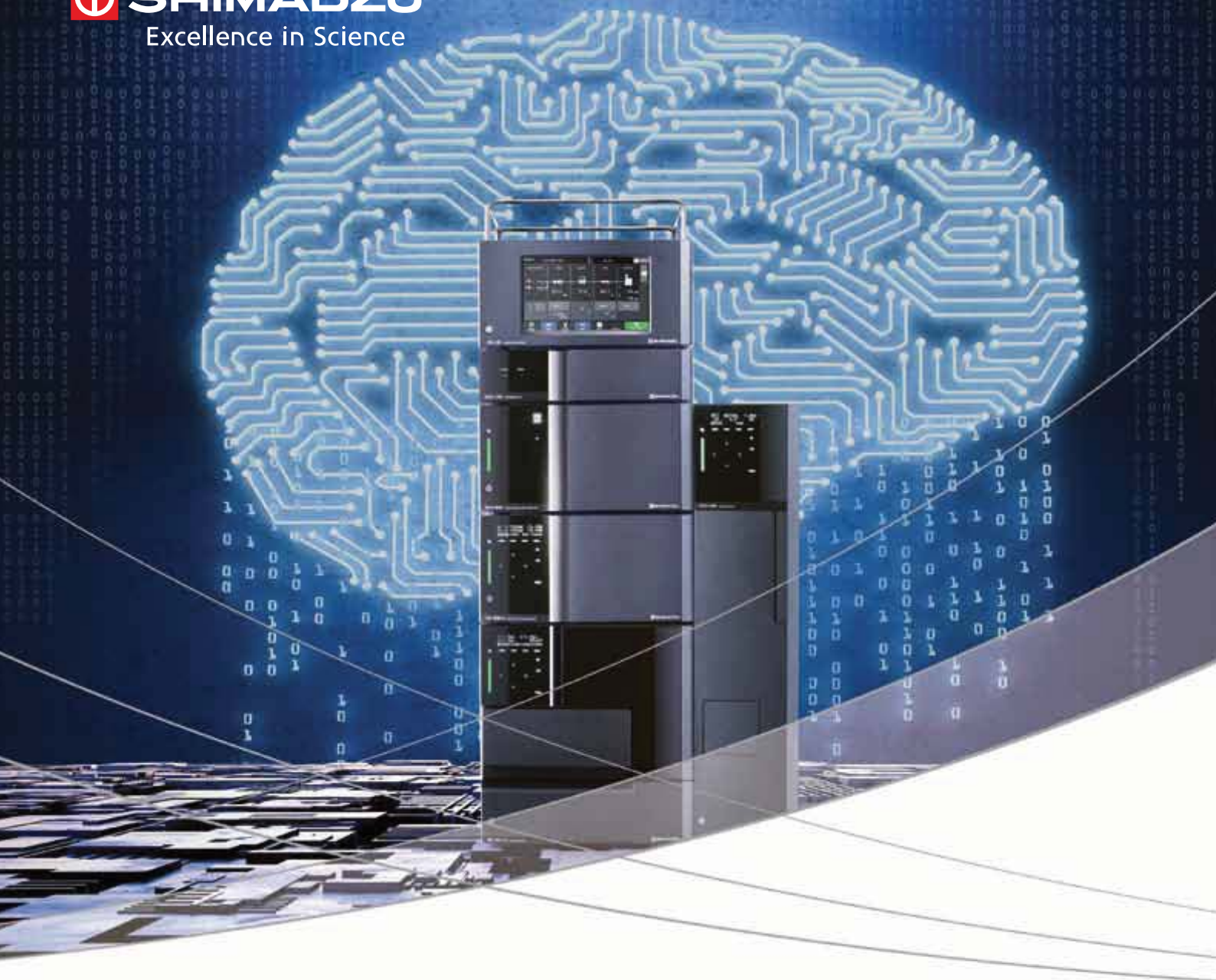
12 měsíců
na prestižní univerzitě
dle vašeho výběru

Máte Ph.D. a projekt v oboru organické, bioorganické nebo medicínální chemie a je vám méně než 35 let?

přihlaste se do
15. března 2022

www.experientia.cz

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 116 (2022), čís./no. 2 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 146, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 132 • ISSN 0009-2770, ISSN 1213-7103 (e-verze) • evidenční číslo MK ČR E 321 • Vydává Česká společnost chemická jako časopis Asociace českých chemických společností ve spolupráci s VŠCHT Praha, s ČSPCH a ÚOCHB AV ČR za finanční podpory Rady vědeckých společností ČR, Akademie věd ČR, Nadace Český literární fond a kolektivních členů ČSCH • IČO 444715 • Published by the Czech Chemical Society • VEDOUČÍ REDAKTOR/EDITOR-IN-CHIEF: V. Vyskočil • REDAKTORI/EDITORS: J. Barek, E. Benešová, P. Drašar, P. Holý, P. Chuchvalec, M. Jurásek, Z. Kolská, B. Kratochvíl, J. Masák, J. Podešva, P. Šmejkal; Bulletin: P. Drašar; Webové stránky: R. Liboska, V. Vyskočil • ZAHRANIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTORI/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA) • TECHNICKÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: R. Řápková • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: K. Bláha, L. Červený, E. Dibuszová, L. Grubhoffer, J. Hanika, Z. Havlas, M. Hof, Z. Hostomský, J. Káš, M. Koman, P. Konvalinka, J. Kotek, J. Koubek, J. Málek, P. Matějka, K. Melzoch, V. Pačes, M. Pospíšil, V. Růžička, P. Slaviček, I. Stibor, V. Šimánek, J. Zima, T. Zima • ADRESA PRO ZASÍLÁNÍ PŘÍSPĚVKŮ/MANUSCRIPTS IN CZECH, SLOVAK OR ENGLISH CAN BE SENT TO: Chemické listy, Novotného Lávka 5, 116 68 Praha 1; tel./phone +420 221 082 370, e-mail: chem.listy@csvts.cz • INFORMACE O PŘEDPLATNÉM, OBJEDNÁVKY, PRODEJ JEDNOTLIVÝCH ČÍSEL A INZERCE/INFORMATION ADS: Sekretariát ČSCH, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel. +420 221 082 383, e-mail: chem.spol@csvts.cz, chem.ekonom@csvts.cz • PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL: <http://www.chemicke-listy.cz> • TISK: TG TISK s.r.o., 5. května 1010, 563 01 Lanškroun • SAZBA, ZLOM: ČSCH, Chemické listy • Copyright © 2022 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 180 Kč, roční plné předplatné 2022 (12 čísel) 1810 Kč, individuální členské předplatné pro členy ČSCH 900 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 96 EUR (doručování via SCHS), individuální členské předplatné pro členy ČSCH 73 EUR (doručování via SCHS), 96 EUR + poštovné (individuální doručování), ceny jsou uvedeny včetně DPH • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG • This journal has been registered with the Copyright Clearance Center, 2322 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923, USA, where the consent and conditions can be obtained for copying the articles for personal or internal use • Pokyny pro autory najdete na <http://www.chemicke-listy.cz>, zkratky časopisů podle Chemical Abstract Service Source Index (viz <http://cassi.cas.org/search.jsp>) • Chemické listy obsahující Bulletin jsou zasílány zdarma všem individuálním a kolektivním členům ČSCH a ČSPCH v ČR i zahraničí, do všech relevantních knihoven v ČR a významným představitelům české chemie a chemického průmyslu; v rámci dohod o spolupráci i členům dalších odborných společností • Molekulární námět na obálce: V. Spiwok • Dáno do tisku 27.1.2022.



Přichází nový Bench

Nový kapalinový chromatograf (UHPLC) řady Nexera nabízí průlomovou technologii inteligence, efektivity, a designu. Pokročilé funkce umělé inteligence (AI) nebo správa laboratoře pomocí internetu věcí (IoT) byly do systému začleněny za účelem monitorování výkonu a alokace zdrojů. Díky tomu je Nexera špičkovým a uživatelsky přívětivějším řešením pro veškeré laboratoře. Tímto Shimadzu určuje nová měřítka v kapalinové chromatografii.

Inteligentní funkce automatické diagnostiky a obnovení systému

např. monitorování stavu mobilní fáze v reálném čase, automatické obnovení systému při přítomnosti vzduchových bublin a správa používání spotřebního materiálu

Efektivní automatizace procesů, rychlý a spolehlivý výkon

Od spuštění do vypnutí umožňuje automatizovaný průběh, maximalizuje propustnost a výrazně zvyšuje kapacitu analýz

Kompaktní design

nabízí snadnou obsluhu a šetří místo v laboratoři



Nexera
series



MERCK

streamline laboratory labeling

New: MilliSentials™ Lab Labeling System

Are you using yesterday's tools for tomorrow's research?

The MilliSentials Lab Labeling System provides a complete laboratory labeling solution with laboratory grade labels, a compact WIFI capable printer, and custom-designed laboratory labeling software. The MilliSentials Lab Labeling System offers a complete labeling system specifically designed for the laboratory.



SigmaAldrich.com/MilliSentials

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All Rights Reserved. Merck, the vibrant M and Millipore are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

The life science business
of Merck operates as
MilliporeSigma in the
U.S. and Canada.

Millipore®

Preparation, Separation,
Filtration & Monitoring Products