



Chemické

listy

9



Predátorské časopisy

Léčivý zázvor

Sekundární metabolity rodu *Aspergillus*

Stanovení biogenních aminů v potravinách

Využití nízkoemisního vodíku v EU

Ročník 116

CHLSAC 116 (9) 517 - 564 (2022) ISSN 0009 - 2770 <http://www.chemicke-listy.cz>

Stay in touch through our Virtual Symposia

Connecting leading minds in the chemical sciences
and bringing cutting-edge research directly to you

Keep up-to-date on upcoming events
hosted by *Chemistry Europe* journals
on topics, such as:

- Organic Synthesis
- Chemical Biology
- Physical and Medicinal Chemistry
- Battery Research and Sustainability

And many more...





Švýcarský nůž analytiky

Inspirovaný věrností a spolehlivostí – to je nová éra SFC

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

Bezprecedentní stabilita tlaku zajistí přesná a reprodukovatelná data

pomocí unikátního nízko-objemového regulátoru zpětného tlaku

Rychlejší průtoky, vyšší výkon a nižší náklady na analýzu

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

Automatizovaný proces vytváření metod
pro LC nebo SFC testování

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



Predátorské časopisy podruhé

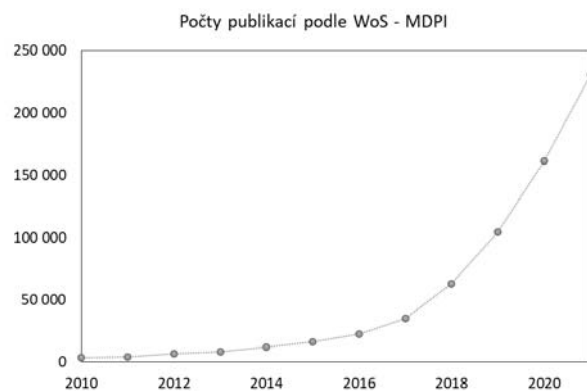
Predátorské časopisy jsou produktem dnešní doby, která tvůrčí činnost akademických vědeckých pracovníků hodnotí striktně podle počtu publikací a jim odpovídajících scientometrických ukazatelů. S tím souvisí rozdělování finančních prostředků, a proto je vědecké publikování dobrý byznys. Téma publikování v predátorských časopisech bylo již v Chemických listech zmíněno v roce 2016 v úvodníku Jiřího Podešvy¹. Od tohoto roku se taktika a strategie predátorských časopisů přece jenom trochu pozměnila a především vznikla podivná šedá zóna na hranici seriózní/predátorský. Stále však platí, že publikovat v predátorských časopisech je neetické a jejich příspěvatelé se vystavují jistému politickému riziku². Podrobná analýza toho, kdo a z jaké země publikuje v predátorských časopisech, je citlivá záležitost, jak lze dokumentovat na příkladu českých autorů Macháčka a Srholce, kteří se o to pokusili ve svém příspěvku v časopise *Scientometrics*³. „Postižení“ se samozřejmě redakci ozvali a ta pod jejich tlakem stáhla zmíněnou publikaci ze svého webu, a to zase k nelibosti zmíněných autorů. Označení časopisu za predátorský tak může být i předmětem soudního sporu. Na druhé straně však někteří výzkumníci, kteří publikují v predátorských časopisech, tak činí neúmyslně. Proces vzniku a zániku vědeckých časopisů je přirozený jev a ne každý nový časopis na trhu musí být nutně predátorský. Nicméně situace ve vědecké komunitě je taková, že řada z nás stále dostává 10 i více nevyžádaných mailů týdně s podlézavým oslovením, typu: „Highly respected personality; The selective scientist who has enormously contributed to the scientific community; An eminent researcher like you“, kdy redakce nejroztodivnějších časopisů žádají o spolupráci, tj. především o rukopis. Vůbec přitom nevadí, že chemik je žádán o příspěvek z naprosto odlehlého oboru (např. ošetřovatelství, nebo klinické studie apod.). Je pozoruhodné, že tyto žádosti si redakce pečlivě evidují, což vyplývá z opakovaných pokusů (we tried several times...). Jak se v té spleti vědeckých časopisů vyznat? Základem je tzv. Beallov seznam: „Potential predatory scholarly open-access publishers“, který je pravidelně aktualizován, poslední aktualizace je z 8. 12. 2021 (cit.⁴). Při hodnocení je potřeba postupovat obezřetně. To, že vydavatel je na Beallov seznamu, znamená pouze indikátor – pozor! Problematika je daleko komplexnější a jedna z námitek proti Beallov seznamu je podjatost jeho autora vůči režimu „Open Access“ (OA). Kromě toho některé naše vědecké instituce umisťují na svoje webové stránky varování před (potenciálně) predátorskými vydavatelstvími⁵. Strategii těchto predátorských vydavatelství jsou speciální čísla, jejichž enormní počet naprosto převažuje nad čísly nespécialními⁶. Speciální čísla jsou garantována „guest editors“, přičemž tato pozice Vám může být též nabídnuta a pak je Vaši starostí si obstarat z okruhu Va-

šich kolegů z oboru dostatečný počet příspěvků. Úroveň těchto speciálních čísel může proto velmi kolísat podle toho, jak je osoba „guest editora“ zběhlá a známá v oboru. Speciální čísla vychází v režimu OA, tzn., že autor platí za svoji publikaci vydavateli předem.

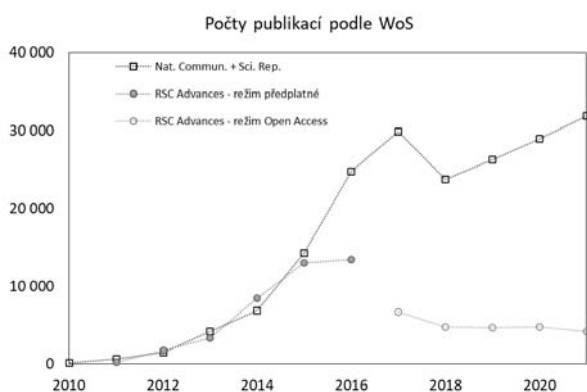
Ale nyní ruku na srdce – dokážeme s jistotou udělat dělicí čáru mezi „predátorskými“ a „nepredátorskými“ vydavateli? Co když se jedná jen o agresivní marketing (jakkoli otravný a obtěžující) a redakční postup a recenzní řízení jsou v pořádku? Samozřejmě to může být i tak, že vydavatel se rozhodl vybrat peníze a kromě vlezlých mailů též „pustí všechno“, protože každý článek znamená další příjem.

Podívejme se na výše odkazované vydavatelství MDPI (Multidisciplinary Digital Publishing Institute)⁵ – a ukažme, jak bychom mohli identifikovat „podezřelé“ časopisy (nebo vydavatele), a to nikoli na základě dojmu, nýbrž na základě dat? Za jeden z indikátorů můžeme považovat (téměř) exponenciální nárůst počtu publikací v posledních letech. Necht' si laskavý čtenář sám porovná hlavní vydavatele na stránce ESAC Market Watch⁷ (a zaměří se zejména na MDPI, Frontiers Media SA, Springer Nature, ale i např. Elsevier). Biochemik by řekl, že ti OA vydavatelé jsou v log fázi (exponenciální), ale např. Elsevier a Springer Nature mají dosti podobné tendence a vypadají, že jsou jen trochu pozadu – na přechodu z lag (klidové) fáze do exponenciální fáze. Nevypadá to, že by se „tradiční“ komerční vydavatelé dívali na extra peníze skrz prsty.

Abychom byli konkrétní – zde je vývoj počtu publikací u MDPI, který asi nepotřebuje příliš komentář.



Ale nyní trochu komplikovanější příklady – časopis *RSC Advances* (vydáván Royal Society of Chemistry) a časopisy *Scientific Reports* a *Nature Communications* (dva Open Access časopisy vydávané Nature Research Group, jež je dnes součástí Springer Nature).



Masivní publikování v časopisech *Scientific Reports* a *Nature Communications* je hlavním důvodem nárůstu počtu publikací u vydavatele Springer Nature. Jak tohle interpretovat? Bylo vždy tolik dobrých rukopisů, které jen nedostaly prostor? Nebo je to tak, že vědci jsou ochotni potisknout jakýkoli volný kus papíru pro nasbírání dalších bodů? A je mírnější nárůst počtu článků (oproti např. MDPI) dán lepším recenzním řízením, nebo (cynická varianta) jich při APC (Article Processing Charge) ve výši 7 000 EUR prostě tolik nepotřebují (pro vygenerování zajímavého příjmu)?

A nyní obrácený případ – časopis *RSC Advances*. Měl téměř exponenciální nárůst článků až do roku 2016. Od ledna 2017 přešel do režimu Gold OA, a to za nijak prohibitivních podmínek – 500 GBP za jeden příspěvek, v letech 2017–2018, pak 750 GBP.

Jak ale interpretovat v grafu ten skokový pokles? Že režim OA přispěl ke kvalitě, protože většina autorů usoudila, že jejich výtvor nestojí za vynaložení 500 GBP pro otevření v režimu OA? Nebo že se jednalo o neúspěšný pokus vytvořit OA „megajournal“ pro chemii? Nezačalo se ale rovnou v režimu OA, nýbrž v čistě předplatném režimu. Časopis se „nafoukl“ a pak se spoléhalo na to, že část autorů vydrží a časopis neopustí ani po přechodu do režimu Gold OA?

Jak je vidět, podezření se nevyhnu ani renomovaní vydavatelé, situace je o to komplikovanější, že vydavatelé

(i ti menší) mohou mít jak špičkové tituly, tak tituly, kde je rozhodně prostor pro pochybnosti.

A tak na závěr nezbyvá, než každému doporučit podívat se na weby *Think. Check. Submit/Attend*, příp. na jejich českou verzi⁸. Je doba letních a podzimních dovolených – a ejhle, náhodička – nabízí se týdenní konference v řeckém letovisku, s garantovaným vydáním příspěvku v nějakém bližší nespecifikovaném časopise, přičemž abstrakt je přijat do týdne. To vypadá lákavě! Tady asi žádný „checklist“ nepotřebuje nikdo, že...? Ale přesto, prozkoumáme-li záznamy v *RIVu*, tak do „top 40“ vydavatelů se nám jeden takový subjekt propracoval. Že by (staro)nová kategorie – predátorské konference?

Bohumil Kratochvíl a Jiří Jirát

LITERATURA

1. Podešva J.: *Chem. Listy* 110, 841 (2016).
2. https://www.idnes.cz/zpravy/domaci/univerzita-karlova-kralickova-predatorske-casopisy-publikace-volba-rektor.A211005_110229_domaci_cun, staženo 24.5.2022.
3. Macháček V., Srholec M.: *Scientometrics* 126, 1897 (2021).
4. <https://beallslist.net/>, staženo 7. 6. 2022.
5. <https://www.lf2.cuni.cz/clanky/pozor-na-casopisy-vydavatelstvi-mdpi>, staženo 7. 6. 2022.
6. <https://paolocrosetto.wordpress.com/2021/04/12/is-mdpi-a-predatory-publisher/>, staženo 8. 6. 2022.
7. <https://esac-initiative.org/market-watch/>, staženo 29. 6. 2022.
8. <https://thinkchecksubmit.org/>; <https://thinkcheckattend.org/>; <https://vimkdepublikuji.cz/konferuji/>, staženo 1. 7. 2022.

● Kratochvíl B., Jirát J.: *Chem. Listy* 116, 517–518 (2022).

● <https://doi.org/10.54779/chl20220517>

ZÁZVOR, Z JÍDELNÍHO STOLU ROVNOU DO LÉKÁRNY

MICHAL JURÁŠEK a PAVEL DRAŠAR

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

Klíčová slova: zázvor, gingeroly, shogaloly, biologická účinnost

• <https://doi.org/10.54779/chl20220519>



Zázvor lékařský (*Zingiber officinale* Roscoe) je vytrvalá tropická rostlina (obr. 1, cit.¹), pěstovaná v Orientu pod různými jmény, jmenovitě ada, adrak, aradraka, adu, ale, allamu, gyin, halia bara, ingiver, inchi, inji, sonthi. V angličtině známá jako ginger, německy Ingwer. Je z čeledi zázvorníkovitých spolu s kurkumou, kardamomem či galangalem. Používá se její oddenek, jako potravinářská i léčivá droga, ať již čerstvý, nakládáný, kandovaný, anebo mletý sušený, či z něho získaný olej a pryskyřice (oleoresin), oba poslední s přívlastkem GRAS (Generally Recognized As Safe)². V angličtině je třeba odlišit ginger-grass (*Cymbopogon martinii*) a black ginger (*Kaempferia parviflora*).

Obr. 1. Zázvor lékařský

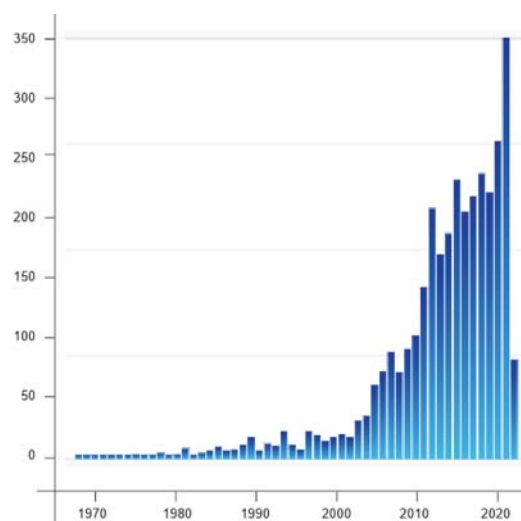
Ve světě je pěstován od nepaměti, s produkcí více než 4 miliony tun ročně, především v Indii. Produktivita se pohybuje kolem 3,5 t/ha (cit.³), přičemž je známo, že jeho produkce je stále více ohrožována napadením houbami⁴. Zmiňují se o něm, jako o užitečné léčivé rostlině, již před 4000 lety i věda⁵, dále pak TCM⁶, Dioscorides⁷ a Matthioli⁸. O tuto drogu jeví chemická literatura vzrůstající zájem, kdy v roce 2021 Chemical Abstracts Service evidoval již 351 článků, jak ukazuje graf na obr. 2.

Zázvor je jednou z nejčastěji konzumovaných rostlinných drog s významnými farmakologickými a fyziologickými aktivitami. Je široce používán v lidovém léčitelství, a to u různých onemocnění, včetně chronických, jako je obecně cukrovka^{10,11}, diabetická nefropatie¹², diabetická retinopatie¹³, diabetes 2 typu¹⁴, řady druhů nádorů^{15–19}, vředy^{20,21}, Alzheimerova choroba^{22,23}, kardiovaskulární onemocnění^{24,25}, plicní fibrózy²⁶, artritické bolesti, otravy⁵, virózy²⁷, a deprese²⁸. Příznivý účinek zázvoru u těchto onemocnění spočívá především v jeho antioxidačních^{29,30}, antimikrobiálních³¹, fungicidních³² a protizánětlivých vlastnostech³³ a kromě jiného zmenšuje obtíže při kinetóze³⁴, migréně³⁵, snižuje hladinu lipidů³⁶, mírní nevolnost

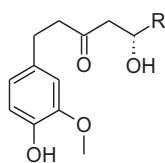
a zvracení, kterážto vlastnost je využívána mj. i při podávání chemoterapeutik³⁷, mírní křeče a bolesti v krku³⁸ a podporuje trávení³⁹. Je známo jeho použití jako afrodisiaka⁴⁰, podle Koránu jej budou užívat pravověrní v ráji⁴¹. Jde o přírodnímu stejně mocných biologických vlastností jako ty, které se snažíme popisovat v tomto časopise, např.^{42–44}, v sérii článků, kterou jsme zahájili před 15 lety⁴⁵.

Ostrá vůně a chuť čerstvého zázvorového oddenku je dána směsí bioaktivních těkavých olejů⁴⁶ či lipofilního extraktu⁴⁷ (např. gingerolů, shogaolů, paradolu a zingeronu), které tvoří přibližně 1–3 % jeho hmotnosti. [6]-Gingerol ((5*S*)-5-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)-dekan-3-on) je považován za hlavní štiplavou a hlavní bioaktivní sloučeninu v čerstvém zázvoru⁴⁸. [4]-, [8]-, [10]-, a [12]-gingeroly jsou přítomny v menším množství⁴⁹. Kromě toho zázvor obsahuje i mono- a seskviterpeny⁵⁰, několik významných a antioxidačních sloučenin, jako je vitamin C, vitamin E, niacin, β-karoten, kyselina pantothenová, lutein, lykopen, kvercetin, genistein a tanin^{11,51}. V zázvoru byly nalezeny nejen základní prvky, jako je draslík, hořčík, fosfor, vápník, ale i mangan, měď, selen a zinek^{11,32}. Kromě toho bylo zjištěno, že zázvor obsahuje malé množství toxických prvků, jako je kadmium, olovo a nikl⁵².

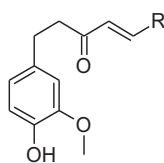
Databáze PubChem uvádí, že [6]-gingerol je v literatuře asociován s působením při radě onemocnění jako neoplazma, rakovina, metastázy, hyperplazie, komplikace spojené s diabetem, intolerance glukosy, keratóza, průjem, krvácení, nemoci prostaty, teratozoospermia, testikulární onemocnění, patologické změny váhy⁵³. V téže databázi se uvádí, že je dráždivý a toxický (LD₅₀/myš/p.o. 250 mg kg⁻¹)



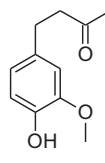
Obr. 2. Rostoucí trend počtu publikací o zázvoru (1969–2022)⁹



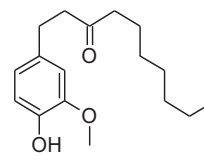
[6]-gingerol
[8]-gingerol
[10]-gingerol
[12]-gingerol



[6]-shogaol R – (CH₂)₄CH₃
[8]-shogaol R – (CH₂)₆CH₃
[10]-shogaol R – (CH₂)₈CH₃
[12]-shogaol R – (CH₂)₁₀CH₃



zingeron



[6]-paradol

Číslo v hranaté závorce značí počet uhlíků v postranním řetězci za α -uhlíkem vedle uhlíku karbonylu.

(cit.⁵⁴). Na rozdíl od předchozího je statut GRAS pro produkty, které obsahuje, a mj. též studie, která uvádí, že byl studován metabolismus gingerolů a shogalolů na zdravých dobrovolnících¹⁵ s dávkami *p.o.* až 2 g. Rozpustí se jej 80 mg v litru vody⁵⁵, ale jeho rozpustnost lze zvýšit komplexací s β -cyklodextrinem⁵⁶ minimálně 4 \times .

Gingeroly a shogaoly jsou po požití metabolizovány na glukuronidy a sulfáty, a tak snadno vylučovány¹¹.

Při zkoumání biologických vlastností zázvoru a jeho komponent narážíme na obtíž. Gingeroly, hlavní sloučeniny v čerstvém zázvoru, jsou náchylné k dehydrataci a přeměně na shogaoly, hlavní sloučeniny v sušeném zázvoru, v důsledku nestability β -hydroxyketonu při vystavení mírnému teplu a/nebo kyselým podmínkám⁵⁷. Tepelná úprava zázvoru transformuje reverzní aldolovou reakcí gingerol na zingeron, který je méně štiplavý a má kořeněně sladkou vůni.

Department of Complementary and Alternative Medicine, John A. Burns School of Medicine, University of Hawai'i, USA, po vyhodnocení dostupných studií rozděluje výsledky na „sugestivní“ (např. krátkodobé užívání zázvoru pro bezpečnou úlevu od nevolnosti a zvracení souvisejících s těhotenstvím), „smíšené“ (např. použití pro cestovní nevolnost, nevolnost po chemoterapii nebo operaci) a „nejasně“ (např. léčbu revmatoidní artritidy, osteoartritidy nebo bolesti kloubů a svalů)⁵⁸.

Prinášíme tento příspěvek opět jako učební text popisující různé zajímavé aspekty chemie přírodních látek (srovnej^{59,60}), i proto, že chceme takto reagovat na množství smyšlenek, polopравd a nesmyslů, které jsou kolem přírodních sloučenin dnes šířeny. Máme totiž radost, když najdeme přírodní látku, která má navíc zanedbatelnou toxicitu, téměř nulové kontraindikace a která je lidstvem používána po tisíce let.

LITERATURA

1. Köhler F. E.: *Köhler's Medizinal-Pflanzen - The Internet Archive List of Koehler Images*, Public Domain, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=5111564>, staženo 5. 4. 2022.
2. FDA: CFR – Code of Federal Regulations Title 21, díl 3,

kap. I/B, část 182/A; <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=182.20>, staženo 5. 4. 2022.

3. Gupta R. K.: *Vegetos 21*, 1 (2008).
4. Ravindran P., Kozhamburath A., Jeevalatha A., Bhat A. I., Krishnamurthy K. S.: *Australas. Plant Pathol.* v tisku (2022); DOI10.1007/s13313-022-00862-z.
5. Afzal M., Al-Hadidi D., Menon M., Pesek J., Dhama M. S.: *Drug Metab. Drug Interact.* 18, 159 (2001).
6. Menon V., Elgharib M., El-awady R., Saleh E.: *Food Biosci.* 41, 100934 (2021).
7. Dioscorides P.: *De materia medica* (Διοσκουρίδης Π.: *Περὶ ὕλης ἰατρικῆς*), Kilikie mezi roky 50 až 75 n.l.; anglický komentovaný překlad Osbaldeston T. A., Ibis Press, Johannesburg South Africa 2000; https://ia802907.us.archive.org/16/items/de-materia-medica/scribd-download.com_dioscorides-de-materia-medica.pdf, staženo 5. 4. 2022.
8. Mathioli P. O., v knize: *Commentarii in sex libros Pedacii Dioscoridis*, Praha 1562; český překlad *Herbář neboli Bylinář* str. 411. Levné knihy, Praha 2003.
9. CAS: <https://scifinder-n.cas.org/>, staženo 10. 4. 2022.
10. Al Hroob A. M., Abukhalil M. H., Alghonmeen R. D., Mahmoud A. M.: *Biomed. Pharmacother.* 106, 381 (2018).
11. Zhu J., Chen H., Song Z., Wang X., Sun Z.: *Evid. Based Complement. Altern. Med.* 2018, 5692962.
12. Rafieian-Kopaei M., Nasri H.: *J. Renal Inj. Prev.* 2, 9 (2013).
13. Ma H., Li J.: *J. Food Biochem.* 2022, e14084.
14. Ebrahimzadeh A., Ebrahimzadeh A., Mirghazanfari S. M., Hazrati E., Hadi S., Milajerdi A.: *Complement. Ther. Med.* 65, 102802 (2022).
15. Zick S. M., Djuric Z., Ruffin M. T., Litzinger A. J., Normolle D. P., Feng M. R., Brenne D. E.: *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 17, 1930 (2008).
16. De Lima R. M. T. a 16 spoluautorů: *Phytother. Res.* 32, 1885 (2018).
17. Saha A., Blando J., Silver E., Beltran L., Sessler J., DiGiovanni J.: *Cancer Prev. Res. (Phila)* 7, 627 (2014).
18. Salafzoon S., Mahmoodzadeh Hosseini H., Halabian R.:

- J. Complement. Integr. Med. 15, 20170071 (2018).
19. Chen S. Y., Lee Y. R., Hsieh M. C., Omar H. A., Teng Y. N., Lin C. Y., Hung J. H.: *Front. Pharmacol.* 9, 2018.00780 (2018).
 20. Wang Z., Hasegawa J., Wang X., Matsuda A., Tokuda T., Miura N., Watanabe T.: *Yonago Acta Med.* 54, 11 (2011).
 21. Liu D., Guo M., Hu Y., Liu T., Yan J., Luo Y., Yun M., Yang M., Zhang J., Guo L.: *J. Tradit. Chin. Med.* 35, 273 (2015).
 22. Noori T., Dehpour A. R., Sureda A., Sobarzo-Sanchez E., Shirooie S.: *Eur. J. Pharmacol.* 898, 173974 (2021).
 23. Cuya T., Baptista L., Celmar Costa Franca T.: *J. Biomol. Struct. Dyn.* 36, 3843 (2018).
 24. Liu Q., Liu J., Guo H., Sun S., Wang S., Zhang Y., Li S., Qiao Y.: *Planta Med.* 79, 322 (2013).
 25. Nicoll R., Henein M. Y.: *Int. J. Cardiol.* 131, 408 (2009).
 26. Liu L., Yu N., Leng W., Lu Y., Xia X., Yuan H.: *Allergol. Immunopathol.* 50, 104 (2022).
 27. Hayati R. F., Better C. D., Denis D., Komarudin A. G., Bowolaksono A., Yohan B., Sasmono R. T.: *BioMed Res. Int.* 2021, 6623400.
 28. Kukula-Koch W., Koch W., Czernicka L., Glowniak K., Asakawa Y., Umeyama A., Marzec Z., Kuzuhara T.: *Molecules* 23, 301 (2018).
 29. Masuda Y., Kikuzaki H., Hisamoto M., Nakatani N.: *Biofactors* 21, 293 (2004).
 30. Danwilai K., Konmun J., Sripanidkulchai B., Subongkot S.: *Cancer Manag. Res.* 9, 11 (2017).
 31. Park M., Bae J., Lee D. S.: *Phytother. Res.* 22, 1446 (2008).
 32. Ficker C., Smith M. L., Akpagana K., Gbeassor M., Zhang J., Durst T., Assabgui R., Arnason J. T.: *Phytother. Res.* 17, 897 (2003).
 33. Jeena K., Liju V. B., Kuttan R.: *Indian J. Physiol. Pharmacol.* 57, 51 (2013).
 34. Ernst E., Pittler M. H.: *Br. J. Anaesth.* 84, 367 (2000).
 35. Mustafa T., Srivastava K. C.: *J. Ethnopharm.* 29, 267 (1990).
 36. Kausar T., Anwar S., Hanan E., Yaseen M., Aboelnaga S. M. H., Azad Z. R. A. A.: *J. Pharm. Res. Intern.* 33, JPRI.67538 (2021).
 37. Dai Y., Zhao Y., Nie K.: *Evid. Based Complement. Altern. Med.* 2022, 1753430.
 38. Kumari I., Madhusudan S., Walia B., Chaudhary G.: *Int. J. Curr. Res.* 13, 16583 (2021).
 39. Micklefield G. H., Redeker Y., Meister V., Jung O., Greving I., May B.: *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* 37, 341 (1999).
 40. Wolf A., Hrubý S., Hájek M., v knize: *Elixiry života*, str. 190. Pragma, Praha 1997.
 41. *Korán, 76. súra prvního mekkánského období („Člověk“)*, verš 17–18, str. 173, překlad Ivan Hrbek, Odeon, Praha 1972.
 42. Kodr D., Rumlová M., Zimmermann T., Džubák P., Jurášek M.: *Chem. Listy* 114, 658 (2020).
 43. Jurášek M., Opletal L., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 458 (2021).
 44. Jurášek M., Opletal L., Harmatha J., Sláma K., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 595 (2021).
 45. Lapčík O., Čopíková J., Uher M., Moravcová J., Drašar P.: *Chem. Listy* 101, 44 (2007).
 46. An K., Zhao D., Wang Z., Wu J., Xu Y., Xiao G.: *Food Chem.* 197 Pt B, 1292 (2016).
 47. Jesudoss V. A. S., Santiago S. V. A., Venkatachalam K., Subramanian P., v knize: *Gastrointestinal Tissue, Chapter 21 - Zingerone (Ginger Extract): Antioxidant Potential for Efficacy in Gastrointestinal and Liver Disease* (Gracia-Sancho J., Salvadó J., ed.), str. 289. Academic Press, London 2017.
 48. He L., Qin Z., Li M., Chen Z., Zeng C., Yao Z., Yu Y., Dai Y., Yao X.: *J. Agric. Food Chem.* 66, 9010 (2018).
 49. Shah Ismail a 10 spoluautorů: *Recent Advances in Natural Products Analysis Chapter 6 - Analysis of other phenolics (capsaicin, gingerol, and alkylresorcinols)* (Silva A. S., Nabavi S. F., Saeedi M., Nabavi S. M., ed.), str. 255. Elsevier, Amsterdam 2020.
 50. Kiyama R.: *J. Nutr. Biochem.* 86, 108486 (2020).
 51. Dhanik J., Neelam A., Viveka N.: *J. Pharmacogn. Phytochem.* 6, 174 (2017).
 52. Koch W., Kukula-Koch W., Marzec Z., Kasperek E., Wyszogrodzka-Koma L., Szwerc W., Asakawa Y.: *Int. J. Mol. Sci.* 18, 452 (2017).
 53. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Gingerol#section=Associated-Disorders-and-Diseases>, staženo 10. 4. 2022.
 54. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Gingerol#section=Toxicity>, staženo 10. 4. 2022.
 55. <https://foodb.ca/compounds/FDB001108>, staženo 10. 4. 2022.
 56. da Silva J. A., Sampaio P. A., Dulcey L. J. L., Cominetti M. R., Rabello M. M., Rolim L. A.: *J. Drug Delivery Sci. Technol.* 61, 102103 (2021).
 57. Sang S. M., Snook H. D., Tareq F. S., Fasina Y.: *J. Agric. Food Chem.* 68, 8517 (2020).
 58. Hoffman T.: *Hawaii Med. J.* 66, 326 (2007).
 59. Čopíková J., Lapčík O., Uher M., Moravcová J., Drašar P.: *Chem. Listy* 100, 778 (2006).
 60. Jurášek M., Opletal L., Kmoníčková E., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 363 (2021).
- M. Jurášek and P. Drašar** (*Department of Chemistry of Natural Compounds, University of Chemistry and Technology, Prague*): **Ginger, from the Dining Table Straight to the Pharmacy**
- Common food and spice, ginger contains a plethora of biologically active compounds that may serve as a basis for pharmaceutical exploitation.
- Keywords: ginger, gingerols, shogalols, biological activity
- Jurášek M., Drašar P.: *Chem. Listy* 116, 519–521 (2022).
 - <https://doi.org/10.54779/chl20220519>

NAJVÝZNAMNEJŠIE SEKUNDÁRNE METABOLITY RODU *ASPERGILLUS*

MICHAELA HARČÁROVÁ^a, PAVEL NAĎ^a
a MARTINA PROŠKOVCOVÁ^b

^a Katedra výživy a chovu zvierat, ^b Katedra farmakológie a toxikológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika
michaela.harcarova@uvlf.sk

Došlo 7.4.22, prijaté 30.5.22.

Kľúčové slová: *Aspergillus* spp., mikroskopické vláknité huby, mykotoxíny

● <https://doi.org/10.54779/chl20220522>

Obsah

1. Úvod
2. Sekundárne metabolity rodu *Aspergillus*
 - 2.1. Aflatoxíny
 - 2.2. Ochratoxíny
 - 2.3. Patulín
 - 2.4. Sterigmatocystín
 - 2.5. Gliotoxín
 - 2.6. Kyselina cyklopiazónová
3. Záver

1. Úvod

Neustále sa meniace klimatické podmienky na našej planéte okrem iného ovplyvňujú aj výskyt mikroskopických vláknitých húb. Mikromycéty, ktoré majú rozmanité rodové a druhové zastúpenie, sú za určitých environmentálnych podmienok schopné syntézy sekundárnych metabolitov – mykotoxínov. Mykotoxíny už od svojho objavenia predstavujú problém celosvetového charakteru. Spôsobujú nielen zdravotné problémy ľudí, ale často bývajú príčinou ekonomických strát v chovoch zvierat. Mykotoxíny sú skrytou hrozbou, pretože sa môžu nachádzať v krmovinách, krmivách, v produktoch živočíšneho a rastlinného pôvodu, a tiež v potravinách¹. Konzumácia krmív a potravín kontaminovaných mykotoxínmi môže negatívne ovplyvniť zdravotný stav zvierat a ľudí. Môžu spôsobiť akútnu alebo chronickú mykotoxikózu, dokonca až smrť postihnutého jedinca, a to v závislosti od typu mykotoxínu a jeho prijatého množstva. Z toxikologického hľadiska mykotoxíny pôsobia ako hepatotoxíny, nefrotoxí-

ny, karcinogény, mutagény a môžu mať aj imunosupresívny účinok². Okrem toho niektoré mykotoxíny majú teratogénny potenciál a môžu spôsobiť malformáciu kostí a negatívne ovplyvniť vývoj fetálnych orgánov^{3,4}. Medzi celosvetovo najvýznamnejších producentov mykotoxínov patria rody *Aspergillus*, *Alternaria*, *Fusarium* a *Penicillium*⁵.

2. Sekundárne metabolity rodu *Aspergillus*

Po prvýkrát boli popísané mikromycéty rodu *Aspergillus* botanikom Pierom Antoniom Mitchelom v roku 1729 (cit.⁶). Dnes predstavuje rod *Aspergillus* jeden z najvýznamnejších rodov mikroskopických vláknitých húb, ktoré sú zodpovedné za znehodnotenie a kontamináciu potravín prostredníctvom mykotoxínov^{7–9} (tab. I). Druhy rodu *Aspergillus* sú prispôbené na rast v tropických oblastiach pri teplote 37 °C a vyššej. Druhy, ktoré sa bežne vyskytujú v potravinách, sú xerofilné a rastú pri aktivite vody min. 0,80. Väčšinou sú prísne saprofytické (rastú po zbere), ale niektoré druhy môžu rásť a vyvíjať sa ako komenzály v rastlinách, bez poškodenia úrody¹⁰. Mnoho druhov rodu *Aspergillus* zapríčiňuje ochorenia rastlín, živočíchov a človeka. Dominantnými druhmi a najčastejšími pôvodcami infekčných ochorení sú *A. flavus* a *A. fumigatus*¹¹. Vo všeobecnosti patria sekundárne metabolity aspergilov medzi najnebezpečnejšie mykotoxíny v rámci zdravia ľudí a zvierat. Najvýznamnejšie mykotoxíny rodu *Aspergillus* sú aflatoxíny, ochratoxíny, patulín, sterigmatocystín, gliotoxín a kyselina cyklopiazónová. Ich výskyt sa potvrdil v mliečnych výrobkoch (mlieko a syry), v čerstvom a sušenom ovocí a zelenine, v semenách s vyšším obsahom tuku a obilninách¹².

2.1. Aflatoxíny

Aflatoxíny (AF) sú významné sekundárne metabolity prírodného pôvodu, ktoré môžu byť produkované až 16 druhmi rodu *Aspergillus*, najmä druhmi *A. flavus* a *A. parasiticus*^{13,14}. Boli popísané v roku 1960 v súvislosti s výskytom ochorenia „Turkey X disease“ na anglických hydinových farmách^{15,16}. Postupom času boli identifikované 4 typy aflatoxínov AFB₁, AFB₂, AFG₁ a AFG₂ a dva metabolické produkty AFM₁ a AFM₂, ktoré boli izolované z mlieka zvierat v laktácii. V súčasnosti je známych približne 20 druhov aflatoxínov. Ich prítomnosť bola zaznamenaná v kukurici, pšenici, jačmeni a iných obilninách, olejnatých semenách, káve, kakaových bôboch, figách, sušenom ovocí, korení, mlieku a v mliečnych výrobkoch¹⁷.

Z hľadiska chemickej štruktúry zaraďujeme aflatoxíny medzi nenasýtené polycyklické, vysoko substituované kumaríny. Sú to termostabilné zlúčeniny a rozkladajú sa

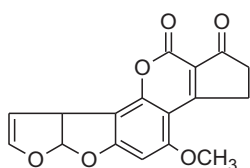
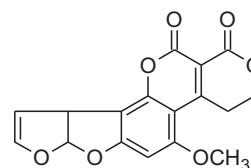
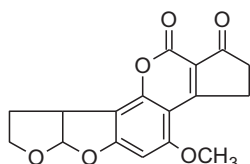
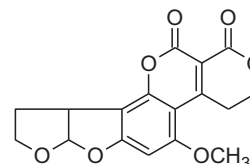
Tabuľka I

Výskyt mikroskopických húb rodu *Aspergillus* v potravinách (prepracované podľa cit.^{7–9})

| Potravina | Druh mikroskopickej huby |
|---------------------------|---|
| Obilniny | <i>Aspergillus clavatus</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Aspergillus versicolor</i> |
| Strukoviny | <i>Aspergillus aculeatus</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Aspergillus parasiticus</i> , <i>Aspergillus versicolor</i> |
| Semená olejnatých rastlín | <i>Aspergillus aculeatus</i> , <i>Aspergillus clavatus</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Aspergillus parasiticus</i> , <i>Aspergillus versicolor</i> |
| Koreniny | <i>Aspergillus clavatus</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Aspergillus versicolor</i> |
| Ovocie a zelenina | <i>Aspergillus aculeatus</i> , <i>Aspergillus clavatus</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i> |
| Iné | <i>Aspergillus clavatus</i> (sušené ryby), <i>Aspergillus flavus</i> (ryby), <i>Aspergillus niger</i> (syr), <i>Aspergillus ochraceus</i> (káva), <i>Aspergillus versicolor</i> (sušené mäso) |

pri teplote vyššej ako 250 °C. Aflatoxíny B₁ a B₂ pod UV žiarením vykazujú modrú (blue) fluorescenciu a aflatoxíny G₁ a G₂ sú pomenované podľa žltozelenej farby (green) fluorescencie. Aflatoxíny sú nízkomolekulárne látky s molekulovou hmotnosťou v rozsahu 299 až 346 g mol⁻¹ (obr. 1–4). Toxikologicky najvýznamnejší je alfatoxín B₁ (C₁₇H₁₂O₆) s molekulovou hmotnosťou 312,3 a chemickým názvom (6a*R*-*cis*)-2,3,6a,9a-tetrahydro-4-metoxy-cyklopenta[*c*]furo[3'2':4,5]furo[2,3-*h*][1]benzopyran-1,11-dión. Z hľadiska fyzikálnych vlastností je aflatoxín B₁ svetložltá kryštalická látka, ktorá sa dobre rozpúšťa v polárnych organických rozpúšťadlách (chloroform, metanol a dimetylsulfoxid (DMSO) a málo vo vode. V nepolárnych rozpúšťadlách je AFB₁ nerozpustný¹⁸. Samotný aflatoxín B₁ je biologicky neúčinný. Toxickým sa stáva až po jeho komplikovanej metabolickej aktivácii, ktorá prebieha pomocou mikrozomálnych (cytochróm P-450 dependentných) oxidáz (hlavne CYP1A a CYP3A) za vzniku aktívneho metabolitu AFB₁-8,9-epoxidu^{19,20}. V tejto forme je schopný sa viazať na bunkové makromo-

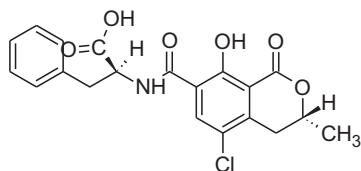
lekuly, bielkoviny, RNA a DNA, pri ktorej sa prednostne viaže na molekulu guanínu v pozícii 7 za vytvorenia stabilného aduktu. Vzniknutý produkt býva príčinou vzniku génových mutácií²¹. Aflatoxíny okrem karcinogénnych účinkov, pôsobia imunosupresívne, mutagénne a teratogénne. Spôsobujú u ľudí menej častú akútnu aflatoxikózu alebo sa prejavujú neskorými toxickými účinkami v podobe chronickej otravy. Letálna dávka pre človeka predstavuje 10–20 mg aflatoxínu^{22–24}. Na účinky aflatoxínov sú citlivé všetky druhy zvierat, ale medzi najcitlivejšie patria vtáky, ryby, psy a ošípané. Menej citlivým je dospělý hovädzí dobytok¹⁸. Podľa medzinárodnej agentúry pre výskum rakoviny (IARC) bol AFB₁ zaradený do skupiny 1A ako preukázaný karcinogén pre človeka a vo všeobecnosti boli ostatné aflatoxíny zaradené medzi potenciálne karcinogény do skupiny 2B. Avšak podľa aktuálnych údajov sú vrátane aflatoxínu B₁, zaradené do skupiny 1 ako karcinogény pre človeka aj aflatoxíny B₂, G₁, G₂ a M₁ (cit.^{25,26}).

Obr. 1. Aflatoxín B₁Obr. 3. Aflatoxín G₁Obr. 2. Aflatoxín B₂Obr. 4. Aflatoxín G₂

2.2. Ochratoxíny

Ochratoxíny sú v tropických a subtropických oblastiach produkované predovšetkým mikromycétami rodu *Aspergillus* (*A. ochraceus*, *A. westerdijkiae*, *A. niger* a iné) a v chladnejších oblastiach najmä mikroskopickými vláknitými hubami rodu *Penicillium* (*P. verrucosum* a *P. nordicum*)²⁷. Prirodzene sa vyskytuje niekoľko druhov ochratoxínov: ochratoxín A, ochratoxín B (dechlorovaný ochratoxín), ochratoxín C (etylovaný ochratoxín), ochratoxín D (4-hydroxyochratoxín), 10-hydroxyochratoxín a ochratoxín α . Ochratoxín A (OTA) je najčastejšie sa vyskytujúci potravinový mykotoxín. Môže sa nachádzať v širokej škále potravín a poľnohospodárskych komodít, kde jeho prítomnosť súvisí najmä s nesprávnymi podmienkami sušenia a skladovania²⁸. Výskyt ochratoxínu A bol potvrdený v obilninách, strukovinách, olejnatých semenách, sušenom ovocí, kávových zrnách, kakaových bôboch, hrozňovej šťave a víne²⁹.

OTA je chemicky stabilná zlúčenina v podobe bielej kryštalickej látky s bodom topenia 168–173 °C. Rozpúšťa sa v chloroforme, etanole a metanole. Z chemického hľadiska a spôsobu biosyntézy patrí ochratoxín A medzi pentaketidy odvodené od dihydrokumarínov spojených s β -fenylalanínom. Ochratoxín A (C₂₀H₁₈O₆ClN) má molekulovú hmotnosť 403,8 g mol⁻¹ a jeho chemický názov je *N*-[(3*R*)-5-chloro-8-hydroxy-3-metyl-1-oxo-3,4-dihydro-1*H*-2-benzopyran-7-karbonyl]-*L*-fenylalanín (obr. 5)³⁰. Pod UV žiarením vykazuje v kyslom prostredí intenzívnu zelenú fluorescenciu a v alkalickom prostredí fluorescenciu modrej farby³¹. V rámci toxicity ochratoxínu A sa potvrdili predovšetkým jeho nefrotoxicke účinky, ale môže pôsobiť aj hepatotoxicky, neurotoxicky, teratogénne a imunosupresívne. Potenciálne nefrotoxicke je pre všetky druhy zvierat okrem dospelého hovädzieho dobytku. Druh a miera toxicity sa líši v závislosti od druhu a pohlavia zvierat. Akútna a chronická toxicita je spájaná so schopnosťou OTA inhibovať syntézu proteínov na základe kompetície s fenylalanínom v reakciách, ktoré sú katalyzované prostredníctvom fenylalanín-tRNA syntetázy. Okrem inhibície bielkovín, zvyšuje peroxidáciu lipidov, narúša metabolizmus cukrov, funkcie mitochondrií a metabolizmus vápnika⁷. Medzinárodná agentúra pre výskum rakoviny zaradila ochratoxín A do skupiny 2B medzi možné karcinogény pre človeka. Avšak pre viaceré dôkazy o karcinogenite ochratoxínu A sa do budúcnosti uvažuje o prehodnení jeho zatriedenia a zaradenie ochratoxínu A do skupiny 2A ako pravdepodobný karcinogén pre ľudí²¹.



Obr. 5. Ochratoxín

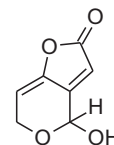
2.3. Patulín

Patulín (obr. 6) je produkovaný okrem zástupcov rodov *Penicillium* a *Byssoschlamis* aj mikroskopickými vláknitými hubami rodu *Aspergillus* (*A. clavatus*, *A. giganteus*, *A. longivesica*)³². V minulosti bol patulín (PAT) pre svoje antibiotické vlastnosti používaný v terapii proti gram-negatívnym a gram-pozitívnym baktériám. Napriek jeho antibakteriálnym, antivirotickým a antiprotozoárnym účinkom bol v 60. rokoch minulého storočia preklasifikovaný na mykotoxín, pretože bola zistená jeho vysoká miera toxicity pre ľudský organizmus³³. Môže sa vyskytovať v plesnivom ovocí, obilí a iných potravinách, najmä v produktoch z jabĺk (šťavy, džúsy, mušty)³⁴.

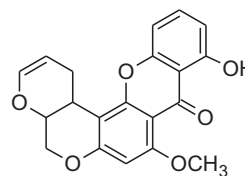
Patulín (4-hydroxy-4*H*-furo[3,2-*c*]pyran-2(6*H*)-ón) je po chemickej stránke nenasýtený laktón s molekulovou hmotnosťou 154 g mol⁻¹ a chemickým vzorcom C₇H₆O₅ (cit.³⁵). V kyslom prostredí a pri teplote do 100 °C je pomerne stabilný. PAT zvyšuje permeabilitu bunkových membrán rozrušovaním cytoplazmatických mikrovlákní a negatívne ovplyvňuje enzymatické procesy v bunkách. Pôsobí inhibične na sukcinátdehydrogenázu a laktátdehydrogenázu a nekompetitívne inhibuje aldolázu. Inhibíciou Na⁺, K⁺ adenosíntrifosfatázy narušuje funkcie membrán a priamo ovplyvňuje mitochondriálne funkcie a procesy dýchania³⁶. Negatívne zasahuje do biosyntézy makromolekúl vrátane RNA polymerázy a DNA polymerázy I. a II. Priamym účinkom na DNA poškodzuje priebeh transkripcie a translácie^{37,38}. Boli potvrdené jeho teratogénne a mutagénne účinky. Podľa IARC je PAT zaradený do skupiny 3 medzi ostatné mykotoxíny, ktoré zatiaľ nie sú klasifikované ako karcinogény²¹.

2.4. Sterigmatocystín

Po prvýkrát bol sterigmatocystín (STE) izolovaný v roku 1954 z kultúry *Aspergillus versicolor*. Vyskytuje sa väčšinou v obilninách, korení, zelených kávových zrnách a mliečnych výrobkoch³⁹.



Obr. 6. Patulín



Obr. 7. Sterigmatocystín

STE je prekuzorom aflatoxínu B₁ a ich chemická štruktúra je podobná (obr. 7)⁴⁰. Sterigmatocystín ((3a*R*,12*cS*)-8-hydroxy-6-metoxi-3a,12*c*-dihydro-7*H*-furo-[3',2':4,5]furo[2,3-*c*]xantén-7-ón) je organická heteropentacyklická zlúčenina, ktorá pozostáva z xantónového jadra pripojeného ku bisfuranovej štruktúre. Patrí medzi polyketidy s molekulovou hmotnosťou 324,29 g mol⁻¹ a teplotou bodu topenia 246 °C (cit.⁴¹). STE (C₁₈H₁₂O₆) je rozpustný v metanole, etanole, acetonitrile, benzéne a chloroforme⁴². Z toxikologického hľadiska sterigmatocystín môže indukovať tvorbu tumorov u ľudí a zvierat. Predpokladajú sa aj jeho mutagénne a genotoxické účinky. Napriek obmedzeným toxikologickým informáciám je sterigmatocystín podľa IARC zaradený do skupiny 2B ako potenciálny karcinogén ľudí⁴³.

2.5. Gliotoxín

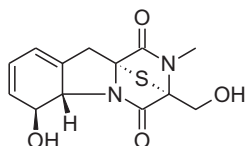
Gliotoxín (obr. 8) produkujú viaceré druhy mikroskopických vláknitých húb ako napríklad *Aspergillus fumigatus*, *Eurotium chevalieri*, *Gliocladium fimbriatum*, a tiež niektoré druhy rodov *Trichoderma* a *Penicillium*^{44,45}. Výskyt gliotoxínu bol zaznamenaný predovšetkým v obilninách a sušenom ovoci⁴⁶.

Chemický názov gliotoxínu je 2,3*R*,5*aS*,6*S*-tetrahydro-6-hydroxy-3-(hydroxymetyl)-2-metyl-10*H*-3,10*aR*-epidithiopyrazino[1,2-*a*]indol-1,4-dión s chemickým vzorcom C₁₃H₁₄N₂O₄S₂. Ako pevná kryštalická látka je rozpustný v DMSO alebo v DMSO s PBS v pomere 1:5. Gliotoxín (GT) je epipolytiodioxopiperazín s molekulovou hmotnosťou 326,4 g mol⁻¹. Obsahuje disulfidový mostík, ktorý môže podliehať opakovanému štiepeniu a následným opravám, čo vedie k silnej intracelulárnej redoxnej aktivite. GT (syn. aspergilín) pôsobí najmä imunopresívne, indukuje apoptózu monocytov a dendritických buniek, redukuje fagocytózu neutrofilov a indukuje angiogénu^{12,47}. Gliotoxín nie je podľa dostupných údajov v súčasnej dobe zaradený do databáz IARC (cit.²⁵).

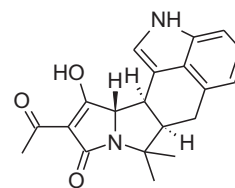
2.6. Kyselina cyklopiazónová

Kyselinu cyklopiazónovú (obr. 9) syntetizujú zástupcovia rodov *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. versicolor* a *A. tamarii*) a *Penicillium*²⁶. Prvýkrát bola izolovaná v roku 1968 Holzapfelom⁴⁸. Kyselina cyklopiazónová sa vyskytuje hlavne v arašidoch, ale jej výskyt bol preukázaný aj v ďalších potravinách, ako sú cereálie, sušená šunka, syr, ovocie a orechy⁴⁹.

Po chemickej stránke je kyselina cyklopiazónová (CPA) derivát kyseliny indoltetramonovej s názvom



Obr. 8. Gliotoxín



Obr. 9. Kyselina cyklopiazónová

10-acetyl-2,6,6*aR*,7,11*aS*,11*bR*-hexahydro-11-hydroxy-7,7-dimetyl-9*H*-pyrrolo[1',2':2,3]isoindolo[4,5,6-*cd*]indol-9-ón a molekulovou hmotnosťou 336,4 g mol⁻¹. Kostra kyseliny indoltetramonovej CPA je biosyntetizovaná z tryptofánu, mevalonátu a dvoch molekúl acetátu. CPA (C₂₀H₂₀N₂O₃) je v práškovej forme bielej farby rozpustná v chloroforme, metanole, DMSO alebo v kombinácii DMSO s PBS v pomere 1:1 a vo vode sa nerozpúšťa. Kyselina cyklopiazónová je známa ako silný inhibitor sarkoplazmatickej a endoplazmatickej ATP-ázy aktivovanej Ca²⁺. Toxicky pôsobí najmä vo vyšších dávkach (70 mg kg⁻¹) a najcitlivejším druhom na účinky kyseliny cyklopiazónovej je ošípaná⁵⁰. Medzinárodná agentúra pre výskum rakoviny pre nedostatok dôkazov doposiaľ nehodnotila účinky kyseliny cyklopiazónovej z hľadiska potenciálneho karcinogénneho nebezpečenstva²⁶.

3. Záver

Zástupcovia rodu *Aspergillus* patria medzi potenciálne toxigénne mikroskopické vláknité huby. To znamená, že za vhodných podmienok sú schopné produkovať širokú škálu sekundárnych metabolitov, ktoré sa vyznačujú rôznou biologickou aktivitou. Najvýznamnejšími produktami sú mykotoxíny, ktoré pôsobia na živý organizmus ako karcinogény, mutagény alebo teratogény. Prítomnosť mykotoxínov rodu *Aspergillus* sa dokázala v rozličných poľnohospodárskych plodinách, ale aj v živočíšnych a rastlinných produktoch. Ich maximálne prípustné hladiny sú v rámci EÚ regulované zákonmi. Maximálne prípustné limity kontaminujúcich látok v potravinách vrátane mykotoxínov rodu *Aspergillus* sú uvedené v *Nariadení Komisie (ES) č. 1881/2006*. O nežiaducich látkach v krmivách pre zvieratá pojednáva *Smernica 2002/32/ES* a maximálne limity mykotoxínov v produktoch určených na kŕmenie zvierat sú uvedené v *Doporučení Komisie č. 576/2006/ES*. Záujem o mykotoxíny vyplýva najmä z ich fyzikálno-chemických vlastností, akými sú najmä stabilita v meniacich sa podmienkach prostredia a vysoká toxicita. V súčasnej dobe existujú rôzne fyzikálne, chemické a biologické postupy a prostriedky, ktorými sa znižujú hladiny jednotlivých mykotoxínov. Poznatky o chemicko-fyzikálnych vlastnostiach mykotoxínov rodu *Aspergillus* prispievajú k snahe vybrať/vytvoriť čo najúčinnjšiu metódu, ktorá by viedla k ich degradácii alebo inaktivácii.

Táto práca bola podporená Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky prostredníctvom grantu VEGA č. 1/0402/20 a grantu KEGA č. 006UVLF-4/2022.

Zoznam skratiek

| | |
|------|---|
| AF | aflatoxíny |
| CPA | kyselina cyklopiazónová |
| DMSO | dimetylsulfoxid |
| EÚ | Európska Únia |
| IARC | Medzinárodná agentúra pre výskum rakoviny |
| OTA | ochratoxín A |
| PAT | patulín |
| PBS | fosfátom pufrovaný fyziologický roztok |
| STE | sterigmatocystín |

LITERATÚRA

- Silva J. V. B. D., Oliveira C. A. F. D., Ramalho L. N. Z.: *Food Sci. Technol.* **42**, 9 (2022).
- Rocha E. B., Freire F. C. O., Maia E. F., Guedes I. F., Rondina D.: *Food Control* **36**, 159 (2014).
- Abdel-Wahhab M. A., Hassan A. M., Amer H. A., Naguib K. M.: *J. Appl. Toxicol.* **24**, 469 (2004).
- Fetaih H. A., Dessouki A. A., Hassanin A. A., Tahan A. S.: *Pathol. Res. Pract.* **210**, 1079 (2014).
- Roseanu A., Jecu L., Badea Doni M., Evans R.: *Rom. J. Biochem.* **47**, 79 (2010).
- Abdel-Azeem A., Abdel-Azeem M., Abdul-Hadi S., Darwish A., v knihe: *Fungal Biology* (Yadav A., Mishra S., Singh S., Gupta A., ed.), Springer, Cham 2019.
- Malíř F., v knihe: *Mikroskopické vláknité huby a mykotoxíny v potravinách a krmivách* (Laciaková A. a kol.), kap. 14. Viena s. r. o., Košice 2011.
- Lević J., Gošić-Dondo S., Ivanović D., Stanković S., Krnjaja V., Bočarov-Stancić A., Stepanić A.: *Pestic. Phytomed.* **28**, 167 (2013).
- Alshannaq A., Yu J. H.: *Int. J. Environ. Res. Public Health* **14**, 632 (2017).
- Cabañes F. J., Bragulat M. R.: *Curr. Opin. Food Sci.* **23**, 1 (2018).
- Sugui J. A., Kwon-Chung K. J., Juvvadi P. R., Latgé J. P., Steinbach W. J.: *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **5**, 2 (2015).
- Ráduly Z., Szabó L., Madar A., Pócsi I., Csernoch L.: *Chain. Front. Microbiol.* **10**, 2908 (2020).
- Mousavi Khaneghah A., Chaves R. D., Akbarirad H.: *Curr. Nutr. Food Sci.* **13**, 78 (2017).
- Frisvad J. C. a 11 spoluautorov: *Stud. Mycol.* **93**, 1 (2019).
- Blout W. P.: *Turkeys* **9**, 52 (1961).
- Smith M. C., Madec S., Coton E., Hymery N.: *Toxins* **8**, 94 (2016).
- Benkerroum N.: *Int. J. Environ. Res. Public Health* **17**, 1215 (2020).
- Dhanasekaran D., Shanmugapriya S., Thajuddin N., Panneerselvam A., v knihe: *Aflatoxins-Biochemistry and Molecular Biology* (Guevara-González R. G., ed.) kap. 12, str. 221. IntechOpen, Rijeka 2011.
- Neal G. E., Eaton D. L., Judah D. J., Verma A.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **151**, 152 (1998).
- Keřińska-Pacelik J., Biel W.: *Toxins* **13**, 822 (2021).
- Ostry V., Malir F., Toman J., Grosse Y.: *Mycotoxin Res.* **33**, 65 (2017).
- Marchese S., Polo A., Ariano A., Velotto S., Costantini S., Severino L.: *Toxins* **10**, 214 (2018).
- Pitt J. I.: *Med. Mycol.* **38**, 17 (2000).
- Bennett J. W., Klich M.: *Clin. Microbiol. Rev.* **16**, 3 (2003).
- IARC: <https://inchem.org/documents/iarc/iarcmono/v100fiarc.pdf>, stiahnuté 18. 3. 2022.
- Ostry V., Toman J., Grosse, Y., Malir F.: *World Mycotoxin J.* **11**, 135 (2018).
- Reddy L., Bhoola K.: *Toxins* **2**, 771 (2010).
- Bui-Klimke T. R., Wu F.: *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **55**, 13 (2015).
- Perrone G., Susca A., Cozzi G., Ehrlich K., Varga J., Frisvad J. C., Meijer M., Noonim P., Mahakarnchanakul W., Samson R. A.: *Stud. Mycol.* **59**, 14 (2007).
- El Khoury A., Atoui A.: *Toxins* **2**, 461 (2010).
- Vieira T., Cunha S., Casal S., v knihe: *Coffee in Health and Disease Prevention* (Preedy V., ed.) str. 1023. Academic Press, San Diego 2015.
- Puel O., Galtier P., Oswald I. P.: *Toxins* **2**, 613 (2010).
- Pal S., Singh N., Ansari K. M.: *Toxicol. Res.* **6**, 764 (2017).
- Moss M. O., Long M. T.: *Food Addit. Contam.* **19**, 387 (2002).
- Speijers G. J. A., v knihe: *Mycotoxins in Food – Detection and Control*. (Magan N., Olsen M., ed.), kap. 14. CRC Press, Cambridge 2004.
- Das S. K., Patra J. K., Thatoi H.: *Int. Rev. Hydrobiol.* **101**, 3 (2015).
- Schumacher D. M., Müller C., Metzler M., Lehmann L.: *Toxicol. Lett.* **166**, 268 (2006).
- Ismail A. A., Papenbrock J.: *Int. J. Environ. Res. Public Health* **14**, 825 (2017).
- Viegas C., Nurme J., Piecková E., Viegas S.: *Mycology* **11**, 15 (2018).
- Nieto C. H. D., Granero A. M., Zon M. A., Fernández H.: *Food Chem. Toxicol.* **118**, 460 (2018).
- Veršilovskis A., De Saeger S.: *Mol. Nutr. Food Res.* **54**, 136 (2010).
- Septien I., Cutuli M. T., Garcia M. E., G. Suarez G., Blanco J. L.: *Toxicon* **31**, 1337 (1993).
- International Agency for Research on Cancer (IARC): <https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/06/mono88.pdf>, stiahnuté 21. 3. 2022.
- Scharf D. H., Heinekamp T., Remme N., Hortschansky P., Brakhage A. A., Hertweck C.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **93**, 467 (2012).
- Haas H.: *Nat. Prod. Rep.* **31**, 1266 (2014).
- Stroka J., Gonçalves C., v knihe: *Reference Module in Food Science* (Melton L., Shahidi F., Varelis P., ed.), str. 401–419. Academic Press, Cambridge 2018.
- Pardo J., Urban C., Galvez E. M., Ekert P. G., Muller U.,

- Kwon-Chung J., Lobigs M., Mullbacher A., Wallich R., Borner C., Simon M. M.: *J. Cell. Biol.* 174, 509 (2006).
48. Voss K. A., v knihe: *Biodeterioration Research* (Llewellyn G. C., O'Rear C. E., ed.), str. 67–84. Springer, Boston 1990.
49. Gil-Serna J., Vázquez C., González-Jaén M. T., Patiño B., v knihe: *Encyclopedia of Food Microbiology* (Batt C. A., Tortorello M. L., ed.), str. 887–892. Academic Press, San Diego 2014.
50. Burdock G. A., Flamm W. G.: *Int. J. Toxicol.* 19, 195 (2000).

M. Harčárová^a, P. Nad' P., and M. Proškovcová^b
(^a*Department of Animal Nutrition and Husbandry,*
^b*Department of Pharmacology and Toxicology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Slovakia*): **The Most Important Secondary Metabolites of the Genus *Aspergillus***

The presence of *Aspergillus* mycotoxins has been confirmed in various feed and food. They represent a hid-

den threat that cannot be completely prevented. In animal husbandry, they impair their productive health and, in human nutrition, they can cause acute or chronic health complications. This article provides an overview of the most important secondary metabolites of the genus *Aspergillus* in terms of their occurrence, toxicity and physico-chemical properties.

Keywords: *Aspergillus* spp., microscopic filamentous fungi, mycotoxins

● Harčárová M., Nad' P., Proškovcová M.: *Chem. Listy* 116, 522–527 (2022).

● <https://doi.org/10.54779/chl20220522>

Acknowledgement

This work was supported by the Ministry of Education, Science, Research and Sports of the Slovak Republic through the VEGA grant no. 1/0402/20 and KEGA grant no. 006UVLF-4/2022.

STANOVENIE BIOGÉNNYCH AMÍNOV VO VZORKÁCH POTRAVÍN A NÁPOJOV

IVANA GERHARDOVÁ^a, JOZEF SOKOL^a,
MÁRIA MALIAROVÁ^a, NICHOLAS MARTINKA^b
a TIMOTEJ JANKECH^a

^a Katedra chémie, Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave, Námestie J. Herdu 2, 917 01 Trnava, Slovensko, ^b Oddelenie klinickej biochémie, Nemocnica A. Wintera, Winterova 66, 921 01 Piešťany, Slovensko
ivka.gerhardtova@gmail.com

Došlo 5.5.22, prijaté 21.6.22.

Kľúčové slová: biogénne amíny, metódy stanovenia, dusíkaté zlúčeniny, potraviny, nápoje

• <https://doi.org/10.54779/chl20220528>

Obsah

1. Úvod
2. Úprava vzoriek potravín a nápojov
3. Metódy stanovenia biogénnych amínov
 - 3.1. Kvapalinová chromatografia
 - 3.2. Plynová chromatografia
 - 3.3. Kapilárna elektroforéza
4. Biogénne amíny vo vybraných druhoch potravín a nápojov
5. Záver

1. Úvod

Biogénne amíny (BA) sú biologicky aktívne nízko-molekulové dusíkaté zlúčeniny s dobrou chemickou stabilitou a tepelnou rezistenciou^{1,2}. Vyskytujú sa bežne v rôznych druhoch potravín a nápojov a sú produkované špecifickými mikroorganizmami ako výsledok metabolizmu niektorých voľných aminokyselín enzymatickou reakciou (exogénne amíny). Táto reakcia môže byť dekarboxylácia, redukčná aminácia, transaminácia aldehydov a ketónov (endogénne amíny) alebo degradácia určitého prekursoru aminozlúčeniny^{3–5}.

Podľa štruktúry sa BA rozdeľujú na alifatické: putrescín (PUT), kadaverín (CAD), agmatín (AGM), spermin (SPM), spermidín (SPD); aromatické: tyramín (TYR), fenyletylamín (PEA); heterocyklické: histamín (HIS) a tryptamín (TRP)⁶.

Aj keď sa v živočíchoch nachádzajú amíny, ktoré sa podieľajú na fyziologických funkciách (kontrola krvného

tlaku, bunkového rastu, zmena pH žalúdka a čriev, metabolizmus, mozgová aktivita, a pod.), nadmerná konzumácia BA z potravín a nápojov môže spôsobiť alebo zvýšiť riziko nepriaznivých vplyvov na zdravie (tab. I), ako sú napríklad bolesti hlavy, nevoľnosť, alergické reakcie, vyrážky a zmeny krvného tlaku^{7,8}. Práve z tohto dôvodu je potrebné neustále vyvíjať a zdokonaľovať metódy na ich stanovenie, hlavne metódy s nízkou medzou detekcie. Keďže BA sa nachádzajú v každodenne konzumovaných potravinách či nápojoch, tento referát ponúka prehľad možností stanovenia BA v rozličných druhoch potravín a nápojov publikovaných za posledné 3 roky.

2. Úprava vzoriek potravín a nápojov

Najdôležitejším krokom analytického postupu je úprava vzorky. Správnou úpravou vzorky možno znížiť vplyv matrice či zvýšiť analytický signál sledovaných analytov. Extrakcia je prvým krokom k oddeleniu požadovaných analytov z matrice. Na získanie biogénnych amínov zo vzoriek potravín a nápojov sa používa mnoho extrakčných techník, medzi najpoužívanejšie patria extrakcia v systéme kvapalina-kvapalina (LLE), extrakcia tuhou fázou (SPE), mikroextrakcia v systéme kvapalina-kvapalina (LLME), disperzná mikroextrakcia v systéme kvapalina-kvapalina (DLLME), mikroextrakcia tuhou fázou (SPME) a ultrazvukom podporená extrakcia (UAE) (obr. 1)^{9,41}.

LLE, a tiež jej miniaturizovaná forma LLME, je jednoduchá technika extrakcie analytov z kvapalnej vzorky do inej kvapaliny založená na rozdelení analytu medzi dve vzájomne nemiešateľné rozpúšťadlá. Zvyčajne sa analyt nachádza vo vodnej fáze a extrahuje sa do organického rozpúšťadla^{50–52}.

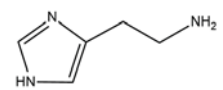
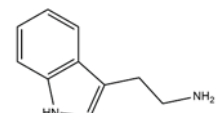
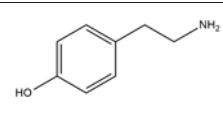
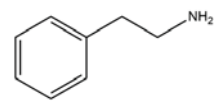
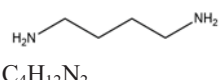
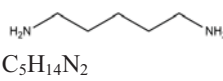
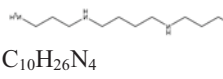
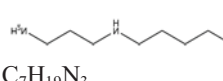
DLLME je príkladom miniaturizovanej techniky, ktorá na zvýšenie účinnosti extrakcie používa disperziu rozpúšťadla vo vzorke. Zmes extrakčného činidla a disperzného činidla sa rýchlo nastrekne do vodnej vzorky, čím sa vytvorí zakalená sústava obsahujúca malé kvapky extrakčného rozpúšťadla dokonale dispergované vo vodnej fáze⁵⁰.

SPE predstavuje v súčasnosti vysokovýkonnú techniku na rýchlu a do určitej miery aj selektívnu úpravu vzorky. Extrakcia prebieha v kolónke (z polypropylénu alebo skla) naplnenej sorbentom. Princíp SPE spočíva v sorpcii analytu/zmesi analytov na tuhú fázu. Extrakcia sa uskutočňuje tak, že sa cez sorbent prepúšťa kvapalná alebo plynná vzorka^{50,51}.

SPME je založená na sorpcii prchavých a semiprchavých látok na vlákno potiahnuté sorbentom, a to buď priamo vo vzorke (priama SPME) alebo v priestore nad hladinou vzorky (headspace SPME). Analyt sa sorbuje na po-

Tabuľka I

Základné fyzikálno-chemické vlastnosti niektorých významných biogénnych aminov a ich fyziologické účinky na organizmus

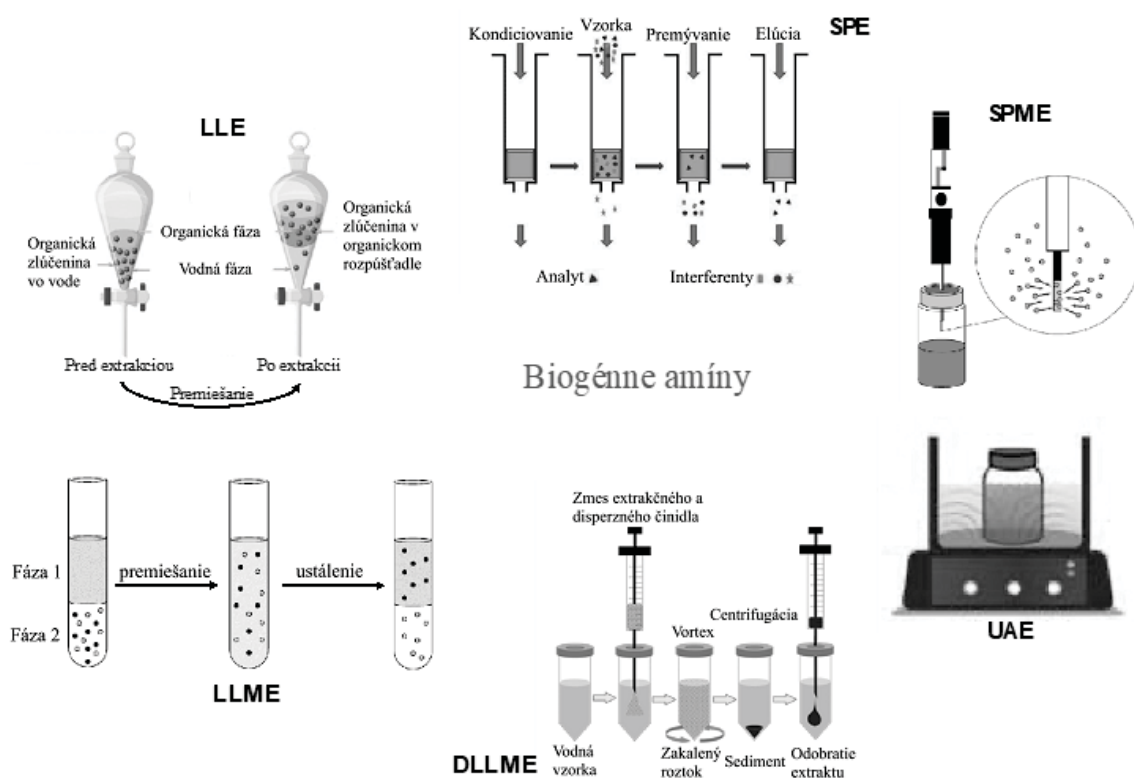
| Názov (skratka) | Štruktúrny a molekulový vzorec | Molárna hmotnosť [g mol ⁻¹] | Význam biogénnych aminov ^a |
|---------------------|---|---|---|
| Histamín (HIS) |  C ₅ H ₉ N ₃ | 111,15 | + regulácia teploty tela, pH žalúdka, regulácia mozgových aktivít, ovplyvňuje funkcie v črevách a množstvo bielych krviniek – bolesti hlavy, alergické reakcie, nevoľnosť, poruchy s dýchaním, žalúdočné a srdcové poruchy, neurotoxicita |
| Tryptamín (TRP) |  C ₁₀ H ₁₂ N ₂ | 160,21 | + zvyšuje krvný tlak, neurotransmitter, neuromodulátor – halucinogén, agresivita, bolesti hlavy |
| Tyamín (TYR) |  C ₈ H ₁₁ NO | 137,18 | + antioxidant, uvoľňuje noradrenalin – zvyšuje krvný tlak a srdcovú frekvenciu – kardiovaskulárne problémy, bolesti hlavy, nevoľnosť |
| Fenyletylamín (PEA) |  C ₈ H ₁₁ N | 121,18 | + neurotransmitter, regulácia hladiny noradrenalinu, – halucinogén, zrýchľuje srdcový tep, zvyšuje krvný tlak, vyvoláva úzkosť, nepokoj |
| Putrescín (PUT) |  C ₄ H ₁₂ N ₂ | 88,15 | + syntéza DNA, RNA a bielkovín, nevyhnutný pre metabolizmus, rast, obnovu všetkých orgánov tela, udržanie metabolickej aktivity, antioxidant – bolesti hlavy, žalúdočné a črevné problémy |
| Kadaverín (CAD) |  C ₅ H ₁₄ N ₂ | 102,18 | + syntéza DNA, RNA a bielkovín, nevyhnutný pre metabolizmus, rast, obnovu všetkých orgánov tela, udržanie metabolickej aktivity, antioxidant – bolesti hlavy, žalúdočné a črevné problémy |
| Spermín (SPM) |  C ₁₀ H ₂₆ N ₄ | 202,34 | + syntéza DNA, RNA a bielkovín, regulácia bunkového rastu a proliferácie, obnova všetkých orgánov tela, úprava imunitnej odpovede, udržanie metabolickej aktivity, antioxidant – zníženie krvného tlaku, respiračné problémy, nefrotoxicita, podieľa sa na karcinogéze |
| Spermidín (SPD) |  C ₇ H ₁₉ N ₃ | 145,25 | + syntéza DNA, RNA a bielkovín, regulácia bunkového rastu a proliferácie, obnova všetkých orgánov tela, úprava imunitnej odpovede, udržanie metabolickej aktivity, antioxidant – zníženie krvného tlaku, respiračné problémy, nefrotoxicita, podieľa sa na karcinogéze |

^a + Pozitívne účinky BA v tele, – negatívne účinky pri predávkovaní sa BA

vrchu vlákna a po uplynutí definovaného času, potrebného na dosiahnutie rovnovážneho stavu, sa desorbuje priamo do prístroja^{50,51}.

Pri UAE sa pri extrakcii využíva energia ultrazvukových vln (frekvencia viac ako 20 kHz). Ultrazvuk v rozpúšťadle vytvárajúci kavitáciu urýchľuje rozpúšťanie a difúziu rozpustenej látky, ako aj prenos tepla, čo zlepšuje účinnosť extrakcie^{53,54}.

Cao a spol. vyvinuli citlivú metódu na stanovenie šiestich BA (TRP, PEA, HIS, TYR, SPD a SPM) v potravinových matriciach. V tejto metóde využili na extrakciu BA zo vzoriek techniku DLLME. K 5 ml roztoku vzorky s pH 9 sa pridalo 400 µl derivatizačného činidla, zmes bola dôkladne premiešaná a inkubovaná počas 15 min pri 60 °C. Na odstránenie prebytočného derivatizačného činidla bolo pridaných 60 µl 25% hydroxidu



Obr. 1. Techniky využívané na extrakciu biogénnych amínov

amónneho. Následne sa na extrakciu pridalo 20 mg magnetickej iónovej kvapaliny – trihexyltetradecylfosfónium tetrachlórkobaltu (MIL) a 300 μl metanolu a zmes sa vortexovala. Z tejto zmesi pomocou silného magnetu získali MIL spolu s analytom, ktoré rozpustili v 500 μl metanolu, prefiltrovali cez 0,22 μm PTFE filter a analyzovali pomocou HPLC (cit.⁵⁵).

UAE využili vo svojej práci¹³ na kvantifikáciu 6 BA v potravinách. Vzorka (2 g) bola zmiešaná s 20 ml roztoku 5% HClO_4 a vortexovaná 5 min a ultrazvukovaná v kúpeli počas 20 min. Po centrifugácii bola k supernatantu opäť pridaná HClO_4 a extrakcia sa zopakovala. Supernatant bol upravený na pH 3 s použitím NaOH a rozpustený na objem 50 ml v 0,5% HClO_4 . Následne boli 2 ml extraktu zmiešané s 5 ml hexánu, po ustálení bolo odobratých zo spodnej fázy 0,25 ml a zmiešaných s 0,75 ml acetonitrilu, roztok bol prefiltrovaný a analyzovaný HPLC-MS/MS.

LLME s GC-MS bola využitá na stanovenie BA v ovocných džúsoch. Extrakcia BA prebiehala nasledovne: v 2 ml ependorfke bolo zmiešaných 65 μl vzorky s 32,5 mg chloridu sodného. Následne bola vykonaná derivatizácia etylchloroformátom pri izbovej teplote – 11 μl 1 M NaOH bolo pridaných ku vzorke na úpravu pH, nasledované prídavkom 1,2 μl derivatizačného činidla a 1,2 μl trietylamínu. Zmes bola zmiešaná s 260 μl etylacetátu a vortexovaná po dobu 1 min, následne bola zmes centrifugovaná 2 min pri 3500 rpm a analyzovaná pomocou GC-MS (cit.³⁵).

Stanovením BA v alkoholických nápojoch sa zaoberali Gil a spol.⁴⁶. Vzorky nápojov boli odplynené v ultrazvukovom kúpeli, prefiltrované cez 0,2 μm nylonový filter a prečistené pomocou SPE – cca 1 ml vzorky bol nanosený na kolónku a dvakrát vymytý s 1 ml ultračistej vody. Analyty boli kvantitatívne izolované po trojitej elúcii s roztokom metanol : NH_4OH (95 : 5, v/v). Eluát bol vysušený pod prúdom N_2 a rekonštituovaný v 1 ml počiatkovej mobilnej fázy. Pred chromatografickou analýzou bol roztok prefiltrovaný.

3. Metódy stanovenia biogénnych amínov

Na stanovenie biogénnych amínov vo vzorkách sa používa viacero analytických techník, ako sú vysokoúčinná kvapalinová chromatografia (HPLC), plynová chromatografia (GC), kapilárna elektroforéza (CE) a tenkovrstvová chromatografia (TLC)⁹.

3.1. Kvapalinová chromatografia

Najčastejšie používanou metódou na stanovenie BA v potravinách je HPLC na reverzných fázach (RP-HPLC). Na separáciu BA sa v najväčšej miere využívajú stacionárne fázy C18 a C8. Mobilnú fázu tvorí voda^{10,11} alebo tlmivý roztok, najčastejšie octanový¹² alebo mravčanový^{13,14}

a organickú fázu tvorí zvyčajne acetonitril^{10,11,14}. Najpoužívanějšími typmi detekcie a kvantifikácie BA sú ultrafialová (UV)^{7,15}, fluorescenčná (FLD)^{16,17} či hmotnostne spektrometrická (MS)^{18–20}. V závislosti od typu detekcie je potrebné dodanie chromofórov prostredníctvom vhodného derivatizačného činidla. Najčastejšie využívané derivatizačné činidlá pri UV či fluorescenčnej detekcii sú *o*-ftalaldehyd (OPA)^{17,20}, 9-fluoroenylmetyloxykarbonyl chlorid (FMOC-Cl)²⁰, dietyl-etoxy-metylmalonát (DEEMM) (cit.^{21–23}), dansyl chlorid (Dns-Cl)^{15,20,24,25}, fenylizotiokyanát (PITC)^{26,27} a 6-aminochinoly-*N*-hydroxysukcinimidyl-karbamát (AQC)^{9,28}.

Do tejto kategórie patrí aj TLC alebo jej výkonnejšia forma – vysokoúčinná tenkovrstvová chromatografia (HPTLC), ktorá sa pre svoje obmedzenia (pracnosť, citlivosť, obmedzené možnosti kvantifikácie) využíva na stanovenie BA v oveľa menšej miere. Aj napriek tomu niektorí autori túto techniku dodnes využívajú^{29,30}. V oboch uvedených prácach sa autori venovali stanoveniu histamínu v morských živočíchoch. Všeobecne sa ako stacionárne fázy využívajú hliníkové platne potiahnuté silikagélom³⁰, prípadne modifikovaným silikagélom. Mobilnými fázami sú najčastejšie chloroform³¹, trimetylamín³¹, dietyléter³² (samostatne alebo v zmesi) či iné rozpúšťadlá podľa typu zvolenej stacionárnej fázy.

3.2. Plynová chromatografia

Priame stanovenie BA vo vzorkách pomocou GC je náročné vzhľadom na ich relatívne nízku prchavosť a množstvo interferentov v zložitých maticiach. Tieto nedostatky je možné zmierniť extrakciou a derivatizáciou, ktorá zvyšuje prchavosť a uľahčuje detekciu v plynovochromatografickej analýze³³. Na separáciu sa využívajú najčastejšie dimetylpolsiloxánové kapilárne kolóny s mobilnou fázou héliom a MS detekciou^{33–37}. Príkladom využitia GC na stanovenie BA je práca³⁵ popisujúca novú mikroextrakčnú techniku v spojení s GC-MS na stanovenie BA v ovocných šťavách.

3.3. Kapilárna elektroforéza

Kapilárna elektroforéza je menej často využívaná technika na kvantifikáciu BA pre jej nízku senzitivitu na tieto analyty³⁸. Za posledné 3 roky je dostupných iba málo publikácií zaoberajúcich sa stanovením BA vo vzorkách potravín či nápojov^{39,40}. Mantoanelli a spol. optimalizovali metódu CE spojenú so spektrofotometrickou detekciou, ktorou stanovili obsah BA (CAD, HIS, PUT, TRP a TYR) v jogurtoch a syroch³⁹. Vo väčšej miere sa využíva CE na stanovenie BA vo vzorkách moču a v iných telových tekutinách^{41–43}. Napríklad práca⁴³ je zameraná na stanovenie serotonínu v moči pomocou dvojdimenzionálnej kapilárnej izotachoforézy – kapilárnej zónovej elektroforézy s MS/MS detekciou.

4. Biogénne amíny vo vybraných druhoch potravín a nápojov

V tab. II je uvedený prehľad prác so stanovením BA vo vzorkách potravín.

Wang a spol.²⁴, Ochi¹⁸ a Shiono a spol.¹⁹ stanovovali obsah BA vo vzorkách rýb pomocou HPLC s PDA (detektor s poľom diód), resp. MS/MS detekciou. Koncentrácie týchto analytov boli v prácach porovnateľné, avšak v mletom rybacom mäse¹⁹ bol ich obsah vyšší ako v čerstvých rybách či konzervovaných. V práci Tsai a spol.⁴⁴ sa zamerali na stanovenie BA vo fermentovanej rybacej omáčke, kde boli ich koncentrácie viac ako 10násobne vyššie v porovnaní s predchádzajúcimi prácami kvôli fermentácii produktu. Pre porovnanie je v tab. II uvedené aj stanovenie BA v sójovej omáčke, kde sú ich hodnoty oproti BA v rybacej omáčke oveľa nižšie (1,99–37,40 mg kg⁻¹)¹³.

Wojnowski a spol.³³ porovnávali obsah BA v kuracom, bravčovom a hovädzom mäse s využitím GC-MS. Obsahy všetkých analytov vo vzorkách boli do 10 mg kg⁻¹, avšak obsahy SPM boli v každom druhu mäsa vyššie, najvyššie v prípade hovädzieho mäsa, a to 23,30 mg kg⁻¹. Naopak, koncentrácia TYR bola vo vzorke hovädzieho mäsa najnižšia (0,2086 mg kg⁻¹). Okrem toho rovnakí autori sledovali čerstvosť vybraných druhov mäsa z hľadiska koncentrácie BA skladovaných pri rôznych podmienkach. Autori vo výsledkoch uvádzajú, že obsah TRP, CAD, PEA a PUT môže poukazovať na čerstvosť mäsa³³.

Pomocou HPLC-UV s off-line predkolónovou derivatizáciou boli stanovené BA v rozličných mäsových výrobkoch (sušená šunka⁷, saláma⁴⁵, párky⁴⁶). Najnižší podiel týchto analytov sa nachádzal v sušenej šunke, niekoľkonásobne vyšší v párkoch, avšak vo vzorke salámy koncentrácie BA (okrem CAD, PEA a SPD) dosahovali viac ako 100 mg kg⁻¹, PUT až 818,5 mg kg⁻¹. Obsah HIS v tejto vzorke (214,1 mg kg⁻¹) dokonca prevyšoval povolený limit HIS v potravinách (200 mg kg⁻¹)⁴⁵.

Dlhším skladovaním potravín dochádza k mikrobiálnej aktivite, a tým k zvýšeniu koncentrácie BA vo vzorkách. Kvantifikáciu BA v zaváraných uhorkách¹³ vykonali Zhang a spol. Koncentrácie BA v tejto vzorke boli nasledovné: CAD 1,76 mg kg⁻¹, PUT 9,13 mg kg⁻¹, TYR 23,32 mg kg⁻¹, PEA 1,36 mg kg⁻¹, HIS 3,63 mg kg⁻¹. Obsahom BA v kyslej kapuste⁷ sa zaoberali Fong a spol. Títo autori porovnávali obsahy BA v kyslej kapuste z obchodu s BA v domácej kyslej kapuste. Zistili, že v domácej kyslej kapuste je obsah BA niekoľkonásobne vyšší oproti kupovanej kapuste. Tieto rozdiely v obsahu možno pripísať hlavne rozdielom v podmienkach skladovania.

V kvasenej kyslej kapuste bol obsah BA niekoľkonásobne vyšší v porovnaní so zaváranými uhorkami. Napríklad obsah PUT bol v kyslej kapuste viac ako 10násobne vyšší v porovnaní s obsahom PUT v zaváraných uhorkách.

Významný obsah BA sa nachádza v mliečnych výrobkoch, hlavne v syroch. Renes a spol.²¹ sledovali zmeny koncentrácie vybraných BA v ovčích syroch na základe

Tabuľka II
Stanovenie BA vo vybraných druhoch potravín

| Matrica | Metóda stanovenia | Koncentrácia BA vo vzorke v mg kg ⁻¹ | |
|---|-------------------|--|---|
| Konzervované ryby ²⁴ | HPLC-PDA | CAD 1,40–3,37 PEA 0,94–1,84 PUT 1,19–2,24 SPD 0,90–2,73 | SPM 0,69–2,54 TRP 1,57–5,14 TYR 0,92–1,67 |
| Makrela ¹⁸ | LC-MS/MS | PUT 1,23 SPD 3,44 | SPM 3,40 |
| Mleté sardinky ¹⁹ | LC-MS/MS | CAD 39–75 HIS 2,1–49 | TYR 2,2–31 |
| Rybacia omáčka ⁴⁴ | HPLC-UV | CAD 759,1 HIS 247,3 PUT 284,9 | SPD 138,7 SPM 249,6 TYR 426,2 |
| Kuracie mäso ³³ | GC-MS | CAD 8,706 HIS 4,332 PUT 1,116 | SPM 15,76 TRP 2,132 TYR 3,116 |
| Bravčové mäso ³³ | GC-MS | CAD 6,330 HIS 3,752 PUT 0,762 | SPM 10,180 TRP 4,42 TYR 1,118 |
| Hovädzie mäso ³³ | GC-MS | HIS 1,266 SPM 23,30 | TRP 7,582 TYR 0,2086 |
| Sušená šunka ⁷ | HPLC-UV | CAD 6,4 PEA 0,1 PUT 2,2 SPD 1,6 | SPM 8,2 TRP 0,2 TYR 1,9 |
| Saláma ⁴⁵ | HPLC-DAD | CAD 54,5 HIS 214,1 PEA 52,4 PUT 818,5 | SPD 54,5 SPM 128,6 TRP 123,9 TYR 346,9 |
| Cottage párky ⁴⁹ | HPLC-UV | CAD 31,0 HIS 8,7 PUT 17,7 SPD 26,1 | SPM 76,3 TRP 13,3 TYR 10,8 |
| Zavárané uhorky ¹³ | HPLC-MS/MS | CAD 1,76 HIS 3,63 PEA 1,36 | PUT 9,13 TYR 23,32 |
| Kyslá kapusta ⁷ | HPLC-PDA | CAD 41,1 | PUT 98,3 |
| Sójová omáčka ¹³ | HPLC-MS/MS | HIS 13,90 PEA 1,99 | PUT 3,75 TYR 37,40 |
| Probiotický jogurt ¹⁰ | RP-HPLC-DAD | CAD 8,22 PUT 4,18 SPD 4,83 | SPM 6,34 TYR 14,20 |
| Ovčí syr ²¹ (doba zretia 240 dní) | UHPLC-PDA | CAD 89,47 PEA 69,79 | PUT 75,45 TYR 585,47 |

rôznej doby zretia týchto syrov. Koncentrácia CAD, PEA, PUT a TYR v syre po 240 dňoch zretia je uvedená v tab. II. Na základe teoretických poznatkov o mikrobiologických procesoch, ktoré potvrdili aj výsledky práce týchto autorov, je zrejme, že čím dlhšia je doba zretia syrov, tým vyšší obsah BA sa v syre nachádza.

Vieira a spol.¹⁰ vyvinuli RP-HPLC-DAD metódu na stanovenie BA vo viacerých druhoch jogurtov

(probiotický, prírodný, grécky, sladený, bezlaktózový, atď.). Obsahy vybraných BA v probiotických jogurtoch boli v rozmedzí 4,18–14,20 mg kg⁻¹. Vzorky probiotických jogurtov vykazovali najvyššiu koncentráciu celkových BA. To môže byť spôsobené niektorými kmeňmi probiotík, u ktorých je hlásená vyššia schopnosť produkcie BA.

V tab. III je uvedený prehľad prác so stanovením BA vo vzorkách nápojov.

V roku 2019 bola publikovaná práca¹⁶, cieľom bolo zistiť obsah BA v rôznych druhoch rastlinného mlieka kvôli vhodnosti tohto nápoja pri histamínovej intolerancii. Obsahy BA v jačmennom a ovsenom mlieku sú uvedené v tab. III. Ako vyplýva z tejto tabuľky, koncentrácia CAD bola v jačmennom mlieku 5× vyššia ako v ovsenom mlieku. Naopak, v ovsenom mlieku bola koncentrácia HIS takmer 3× vyššia ako v jačmennom mlieku.

V rámci kvantifikácie BA vo vzorkách nápojov sa značná pozornosť venuje ich stanoveniu v pive, nakoľko táto matrica obsahuje rôzne hodnoty BA. V práci⁴⁶ na stanovenie využili HPLC s potenciometrickou detekciou, zatiaľ čo v práci⁴⁷ stanovenie prebiehalo s využitím CE v spojení s MS/MS. Na základe výsledkov z oboch analýz (tab. III) môžeme tvrdiť, že koncentrácie BA sú porovnateľné.

Rôzne metódy na sledovanie obsahu BA vo vzorkách vín využili aj Han a spol.²⁵ či Daniel a spol.⁴⁷, kde autori²⁵ využili ultravysokoučinnú kvapalinovú chromatografiu (UHPLC) s PDA detektorom a autori⁴⁷ využili už spomínanú CE s MS/MS. Z výsledkov vyplýva, že priemerné koncentrácie všetkých BA sú vo vzorkách červeného vína

vyššie ako vo vzorkách bieleho vína kvôli dlhšej dobe kvasenia červeného vína. Taktiež v oboch prácach PUT preyšuje koncentrácie ostatných BA. Vo všeobecnosti je obsah PUT vyšší v červených vínach ako v bielych z dôvodu prítomnosti šupky a dužiny hrozna, z ktorých sa do vína uvoľňuje PUT (cit.⁴⁸).

Všeobecne najviac používanou technikou na stanovenie BA vo vzorkách potravín a nápojov je HPLC, resp. UHPLC s MS detekciou. Táto metóda je vysokocitlivá a v spojení s MS detekciou nevyžaduje derivatizáciu týchto analytov. GC sa na stanovenie BA v potravinových matriciach využíva menej často kvôli množstvu interferentov zo zložitej matrice a nízkej prchavosti BA. CE je v posledných rokoch málo využívanou technikou kvantifikácie BA v potravinách a nápojoch pre jej nízku senzitivitu na tieto analyty.

5. Záver

Tento prehľadný referát je venovaný metódam stanovenia BA vo vzorkách potravín a nápojov publikovaných za posledné 3 roky. Je dôležité monitorovať hladiny BA v potravinách a nápojoch vzhľadom na ich význam pre

Tabuľka III
Stanovenie BA vo vybraných druhoch nápojov

| Matrica | Metóda stanovenia | Koncentrácia BA vo vzorke v mg l ⁻¹ | |
|-------------------------------|--|--|-----------------------|
| Jačmenné mlieko ¹⁶ | RP-HPLC-FLD | CAD 3,10 | SPM 0,12 |
| | | HIS 2,55 | TYR 0,43 |
| | | SPD 0,21 | |
| Ovsené mlieko ¹⁶ | RP-HPLC-FLD | CAD 0,67 | SPD 0,57 |
| | | HIS 7,20 | SPM 0,13 |
| Pivo ⁴⁶ | HPLC s potenciometrickou detekciou | CAD 0,25 | SPD 0,34 |
| | | HIS 0,21 | SPM 0,58 |
| | | PEA 0,50 | TRP 0,59 |
| | | PUT 0,30 | TYR 0,74 |
| Pivo ⁴⁷ | CE-MS/MS | CAD 0,28 | SPD 0,47 |
| | | HIS 0,75 | SPM 2,24 |
| | | PEA 0,37 | TRP 0,59 |
| | | PUT 5,89 | TYR 1,17 |
| Vino ⁴⁷ | CE-MS/MS | CAD 0,17 | SPM 0,12 |
| | | HIS 2,08 | TRP 1,14 |
| | | PUT 9,27 | TYR 0,29 |
| | | SPD 0,75 | |
| Biele víno ²⁵ | UPLC-PDA | CAD 0,90 ^a | SPD 0,60 ^a |
| | | HIS 1,34 ^a | SPM 0,05 ^a |
| | | PEA 1,63 ^a | TRP 2,27 ^a |
| | | PUT 3,60 ^a | TYR 1,19 ^a |
| Červené víno ²⁵ | UPLC-PDA | CAD 1,36 ^a | SPD 1,37 ^a |
| | | HIS 2,04 ^a | SPM 0,31 ^a |
| | | PEA 2,25 ^a | TRP 2,72 ^a |
| | | PUT 8,02 ^a | TYR 2,47 ^a |

^a Priemerná hodnota koncentrácie aminu z rôznych druhov vína

ľudské zdravie a bezpečnosť potravín. Koncentrácie BA, ako sú HIS, CAD, PUT, SPD a TYR, dávajú informácie o čerstvosti potravín. Stanovenie BA v čerstvých a spracovaných potravinách je veľmi zaujímavé nielen kvôli ich toxicite, ale aj preto, že môžu byť užitočným indikátorom dozrievania alebo znehodnotenia potravín.

V súčasnosti je na stanovenie BA v týchto maticiach najviac využívaná metóda HPLC spojená so spektrofotometrickou alebo MS detekciou. TLC, GC a CE sa na kvantifikáciu BA pre ich obmedzenia využívajú v oveľa menšej miere ako HPLC. Potreba vyvíjať citlivé metódy s nízkou medzou stanovenia BA narastá so zvýšeným výskytom alergických reakcií po konzumácii potravín obsahujúcich vyššie koncentrácie BA. Okrem týchto výkonných separačných techník sa do budúcnosti ako perspektívne na stanovenie BA javí využitie biosenzorov alebo elektrochemických senzorov.

Vypracované s podporou grantovej agentúry (APVV-17-0113, KEGA 025UCM-4/2021).

LITERATÚRA

- Zhang Y., Zhang Y., Zhou Y., Li G., Yang W., Feng X.: *J. Chromatogr. A* 1605, 360 (2019).
- Jaguey-Hernández Y., Aguilar-Arteaga K., Ojeda-Ramirez D., Añorve-Morga J., González-Olivares L. G., Castañeda-Ovando A.: *Food Res. Int.* 144, 110341 (2021).
- Michalski R., Pecyna-Utylska P., Kernert J.: *J. Chromatogr. A* 1651, 462319 (2021).
- Vasconcelos H., de Almeida J. M. M. M., Matias A., Saraiva C., Jorge P. A. S., Coelho L. C. C.: *Trends Food Sci. Technol.* 113, 86 (2021).
- Maddaloni L., Grasso S., De Gara L., Pennazza G., Zompanti A., Rapa M., Ruggieri R., Vinci G., Santonico M.: *Sens. Actuators, B* 347, 130648 (2021).
- Park Y. K., Lee J. H., Mah J.-H.: *Food Chem.* 278, 1 (2019).
- Fong F. L. Y., El-Nezami H., Sze E. T. P.: *NFS J.* 23, 52 (2021).
- Arulkumar A., Paramithiotis S., Paramasivam S.: *Aquac. Fish.*, v tlačí, doi: 0.1016/j.aaf.2021.02.001.
- Nalazek-Rudnicka K., Kubica P., Wasik A.: *Microchem. J.* 159, 105574 (2020).
- Vieira C. P., Costa M. P., Silva V. L. M., Frasco B. S., Aquino L. F. M. C., Nunes Y. E. C. O., Conte-Junior C. A.: *Arabian J. Chem.* 13, 1582 (2020).
- Mirzaei H., Mogaddam M. R. A., Khandaghi J.: *Microchem. J.* 177, 107313 (2022).
- Huang Y., Song Y., Chen F., Jiang Z., Che Z., Yang X., Chen X.: *Food Chem.* 353, 129423 (2021).
- Zhang X., Hui Y., Jiang M., Cai Y., Huang D., Yang G., Kong C.: *J. Chromatogr. A* 1653, 462415 (2021).
- Gil R. L., Amorim C. G., Montenegro M. C. B. S. M., Araújo A. N.: *Electrochim. Acta* 378, 138134 (2021).
- Wei L., Zhao J., Meng Y., Guo Y., Luo C.: *LWT – Food Sci. Technol.* 118, 108874 (2020).
- Gobbi L., Ciano S., Rapa M., Ruggieri R.: *Beverages* 5, 40 (2019).
- Kouti E., Tsiasioti A., Zacharis C. K., Tzanavaras P. D.: *Microchem. J.* 168, 106513 (2021).
- Ochi N.: *J. Chromatogr. A* 1601, 115 (2019).
- Shiono K., Tsutsumi T., Nabeshi H., Ikeda A., Yokoyama J., Akiyama H.: *J. Chromatogr. A* 1643, 462046 (2021).
- Lkhagva A., Shen C.-C., Leung Y.-S., Tai H.-C.: *J. Chromatogr. A* 1610, 460536 (2020).
- Renes E., Ladero V., Tornadizo M. E., Fresno J. M.: *Food Microbiol.* 78, 1 (2019).
- Maciel L. S., Marengo A., Rubiolo P., Leito I., Herodes K.: *J. Chromatogr. A* 1656, 462555 (2021).
- Poveda J. M.: *Food Control* 96, 227 (2019).
- Wang J., Liu Z., Qu Y.: *J. Chromatogr. A* 1636, 461768 (2021).
- Han B., Han X., Deng H., Wu T., Li Ch., Zhan J., Huang W., You Y.: *Food Control* 136, 108859 (2022).
- Taubert J., Adolph S., Scherer R., Südekum K.-H.: *Anim. Feed Sci. Technol.* 258, 114305 (2019).
- Kim K.-Y., Kwon H.-J., Cho S.-H., Nam M., Kim C.-W.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 172, 33 (2019).
- Macheiner L., Schmidt A., Wagner M., Mayer H. K.: *LWT – Food Sci. Technol.* 154, 112664 (2022).
- Tan A., Zhao Y., Sivashanmugan K., Squire K., Wang A. X.: *Food Control* 103, 111 (2019).
- Zhang Y., Yu J., Lai S., Song J., Wu X., Wang D., Pang L., Chai T.: *Food Control* 122, 107816 (2021).
- Topić Božič J., Butinar L., Bergant Marušič M., Korte D., Mozetič Vodopivec B.: *LWT – Food Sci. Technol.* 156, 112908 (2022).
- Silva I. P., Dias L. G., Silva M. O., Machado C. S., Paula V. M. B., Evangelista-Barreto N. S., Carvalho C. A. L., Estevinho L. M.: *LWT – Food Sci. Technol.* 121, 108969 (2020).
- Wojnowski W., Namieśnik J., Płotka-Wasyłka J.: *Microchem. J.* 145, 130 (2019).
- Stój A., Płotka-Wasyłka J., Simeonov V., Kapłan M.: *Food Chem.* 371, 131172 (2022).
- Róžańska A., Fabjanowicz M., Kalinowska K., Polkowska Z., Płotka-Wasyłka J.: *Food Chem.* 384, 132557 (2022).
- Niedźwiedz I., Płotka-Wasyłka J., Kapusta I., Simeonov V., Stój A., Waško A., Pawłat J., Polak-Berecka M.: *Food Chem.* 381, 132257 (2022).
- Özogul İ., Kuley E., Ucar Y., Yazgan H., Özogul Y.: *Food Biosci.* 41, 101087 (2021).
- Nayik G. A., Kour J. (ed.): *Handbook of Plant and Animal Toxins in Food: Occurrence, Toxicity, and Prevention*. CRC Press, Boca Raton 2022.
- Mantoanelli J. O. F., Gonçalves L. M., Pereira E. A.: *Chromatographia* 83, 767 (2020).
- Pashangeh S., Shekarforoush S. S., Aminlari M., Hosseinzadeh S., Nizet V., Daresh S., Rahmdel S.: *Food Sci. Nutr.* 10, 354 (2022).
- Maráková K., Piešťanský J., Zelinková Z., Mikuš P.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 186, 113294 (2020).
- Hrušková H., Voráčová I., Řemínek R., Foret F.: *J. Sep. Sci.* 45, 305 (2022).

43. Piešťanský J., Matušková M., Čižmarová I., Majerová P., Kováč A., Mikuš, P.: *J. Chromatogr. A* 1648, 462190 (2021).
44. Tsai Y.-C., Chen K.-R., Liao F.-Y., Weng J.-R., Feng C.-H.: *J. Chromatogr. A* 1659, 462629 (2021).
45. Roselino M. N., Maciel L. F., Sirocchi V., Caviglia M., Sagratini G., Vittori S., Taranto M. P., Cavallini D. C. U.: *J. Food Compos. Anal.* 94, 103649 (2020).
46. Gil R. L., Amorim C. G., Montenegro M. C. B. S. M., Araújo A. N.: *Food Chem.* 372, 131288 (2022).
47. Daniel D., Santos V. B., Vidal D. T. R., Lago C. L.: *J. Chromatogr. A* 1416, 121 (2015).
48. Esposito F., Montuori P., Schettino M., Velotto S., Stasi T., Romano R., Cirillo T.: *Molecules* 24, 3629 (2019).
49. Surówka K., Maciejaszek I., Walczak K., Walczycka M., Surówka B., Rzepka M., Banaś J.: *Czech J. Food Sci.* 37, 325 (2019).
50. Labuda J., Špánik I., Tarapčík P., Hrouzková S., Vrábek V., Benická E., Hroboňová K., Sádecká J., Beinrohr E., Liptaj T.: *Analytická chémia*. Nakladateľstvo STU, Bratislava 2014.
51. Mikuš P., Piešťanský J., Dokupilová S.: *Kvapalinová chromatografia, hmotnostná spektrometria a ich kombinácie vo farmaceutickej a biomedicínskej analýze*. VEDA – vydavateľstvo Slovenskej akadémie vied, Bratislava 2018.
52. Molaei R., Tajik H., Moradi M.: *Food Control* 101, 1 (2019).
53. Abubakar A. R., Haque M.: *J. Pharm. Bioallied Sci.* 12, 1 (2020).
54. Zhang Q.-W., Lin L.-G., Ye W.-C.: *Chin. Med.* 13, 20 (2018).
55. Cao D., Xu X., Xue S., Feng X., Zhang L.: *Talanta* 199, 212 (2019).

I. Gerhardtová^a, J. Sokol^a, M. Maliarová^a, N. Martinka^b, and T. Jankech^a (^a*Department of Chemistry, Faculty of Natural Sciences, University of Ss. Cyril and Methodius in Trnava, Trnava*, ^b*Department of Clinical Biochemistry, A. Winter Hospital, Piešťany*): **Determination of Biogenic Amines in Food and Beverage Samples**

Biogenic amines are low-molecular-weight nitrogen compounds that are formed primarily by the decarboxylation of amino acids by microbial enzymes. These active substances are found mainly in various types of food or beverages. At certain concentrations, biogenic amines are essential for many physiological functions but toxic if consumed in large quantities. Therefore, the development and optimization of methods sensitive to determine these substances are very much needed. The determination of biogenic amines in food and beverages by the most commonly used separation methods with different types of detection is covered in this review.

Keywords: biogenic amines, methods of determination, nitrogen compounds, food, beverages

- Gerhardtová I., Sokol J., Maliarová M., Martinka N., Jankech T.: *Chem. Listy* 116, 528–535 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220528>

ONKOGENÉNE FORMY IZOCITRÁTDEHYDROGENÁZY: MECHANIZMY KARCINOGENÉZY A VZNIKU REZISTENCIE NA CHEMOTERAPEUTIKÁ

VERONIKA VOZÁRIKOVÁ

*Katedra genetiky, Univerzita Komenského v Bratislave,
Prírodovedecká fakulta, Mlynská dolina, Ilkovičova 6,
842 15 Bratislava 4, Slovensko
veronika.vozarikova@uniba.sk*

Došlo 1.9.21, prepracované 2.6.22, prijaté 11.7.22.

Kľúčové slová: izocitrátdehydrogenáza, onkogénna mutácia, D-2-hydroxyglutarát, chemoterapia, rezistencia

• <https://doi.org/10.54779/chl20220536>

Obsah

1. Úvod
2. Izocitrátdehydrogenáza
 - 2.1. Onkogénne formy izocitrátdehydrogenázy
 - 2.2. Neomorfná aktivita onkogénnej izocitrátdehydrogenázy
3. Účinok D-2-hydroxyglutarátu na bunku
4. Terapia nádorových ochorení asociovaných s onkogénnou izocitrátdehydrogenázou
 - 4.1. Chemoterapeutiká špecificky cieleňé na onkogénnu izocitrátdehydrogenázu
5. Rezistencia voči inhibítorom onkogénnej izocitrátdehydrogenázy
6. Záver

1. Úvod

Pre široké spektrum nádorových ochorení je v počiatkom štádiu tumorigenézy typická mutácia v metabolickom enzýme izocitrátdehydrogenáza (IDH). Štandardný enzým katalyzuje premenu izocitrátu na α -ketoglutarát (α -KG). V prípade bodovej mutácie v aktívnom mieste izoenzýmov IDH1 a IDH2 nadobúda mutantný enzým (IDH^{onc}) onkogénny potenciál získaním novej funkcie, ktorou je premena α -KG na onkometabolit D-2-hydroxyglutarát (D-2HG). Z dôvodu, že IDH^{onc} hrá kľúčovú úlohu pri vzniku mnohých typov rakoviny, je vynakladaná veľká snaha na využitie IDH^{onc} ako terapeutického cieľa, na ktorý je možné zamieriť špecifické inhibítory. Niektoré z liečiv sa dostali do klinickej praxe, ich používanie však komplikuje vznik rezistencie. Cieľom textu je poskytnúť najnovšie informácie o mechanizmoch karcinogenézy indukovanej IDH^{onc}, špecifických inhibítoroch potláčajúcich

aktivitu IDH^{onc} a o mechanizmoch rezistencie komplikujúcich liečbu založenú na týchto chemoterapeutikách.

2. Izocitrátdehydrogenáza

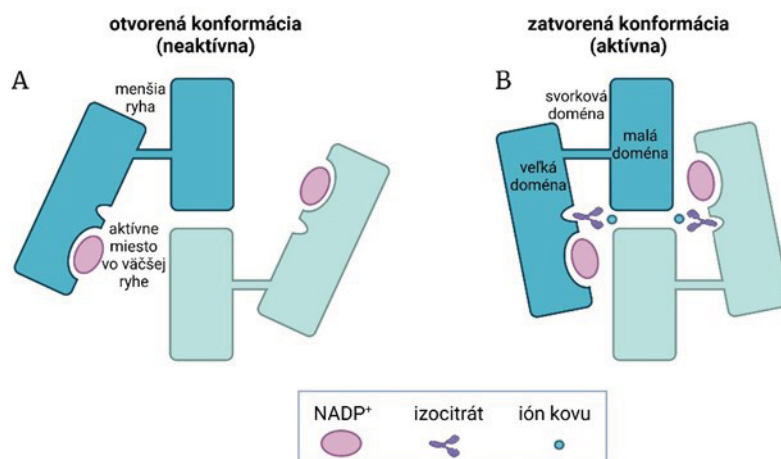
Metabolické IDH (EC1.1.1.42) tvoria rodinu enzýmov vyskytujúcich sa od baktérií až po človeka. Katalyzujú oxidačnú dekarboxyláciu izocitrátu za vzniku α -KG a CO₂ a súčasne dochádza k redukcii dinukleotidového kofaktora, ktorý sa líši v závislosti od izoformy enzýmu^{1,2}. V ľudskom jadrovom genóme sú kódované tri izoenzýmy IDH: NADP⁺-závislé IDH1 a IDH2 a NAD⁺-závislá IDH3. Po jednom géne sú kódované IDH1 a IDH2 a majú homodimérnu štruktúru, kým IDH3 je kódovaná tromi génmi a nadobúda štruktúru heterotetraméru³.

Mitochondriálny izoenzým IDH3 je za fyziologických podmienok schopný katalyzovať len priamu reakciu a má bezprostredný význam pre Krebsov cyklus prostredníctvom produkcie α -KG vstupujúceho do cyklu. Cytosolická a peroxizomálna IDH1 a mitochondriálna IDH2 sú vzájomne evolučne príbuznejšie a na úrovni aminokyselínovej sekvencie zdieľajú až 70% identitu. Nepriamo participujú aj na Krebsovom cykle tým, že na základe pomerov v bunke vďaka schopnosti reverzibilnej katalýzy regenerujú prevyšujúci α -KG späť na izocitrát. Význam však majú aj pre generovanie NADPH zohrávajúceho úlohu v ochrane pred oxidatívnym poškodením a pri ďalších metabolických dráhach⁴.

Štruktúra NADP⁺-závislej IDH1 a IDH2 je tvorená homodimérom nadobúdajúcim tri konformačné stavy. Enzým je aktívny v zatvorenej konformácii, neaktívny v otvorenej konformácii a pri prechode získava čiastočne otvorenú konformáciu. Rozdiel medzi stavmi spočíva v štruktúrnom segmente aktívneho miesta, ktorý nadobúda pri zatvorenej konformácii štruktúru α -helixu a pri otvorenej konformácii štruktúru slučky⁵.

Podjednotka IDH1 pozostáva podobne ako podjednotka IDH2 z troch domén: malej, veľkej a svorkovej domény (obr. 1). Podjednotka IDH1 je tvorená 414 aminokyselinami: veľká doména je z rezíduí 1-103 a 286-414, malá doména z rezíduí 104-136 a 186-285 (striedanie α -helixov a β -listov) a svorka z rezíduí 137-185 (dva antiparalelné β -listy naskladané na sebe). Spojenie malej a veľkej podjednotky je prostredníctvom β -listu, pričom vznikajú po jeho stranách dve ryhy. Väčšia ryha obsahuje aktívne miesto a na uláhčenie prístupu substrátu a kofaktora má hydrofilné vlastnosti. Menšia ryha má hydrofóbne rezíduá vo vnútri a hydrofilné rezíduá pri okraji, čo umožňuje reguláciu zmien konformácie⁵.

Z hľadiska zamerania tejto práce sú dôležité rezíduá v aktívnom mieste enzýmu, ktoré sprostredkujú väzbu so substrátom tým, že vytvárajú vodíkové väzby s jeho



Obr. 1. Schéma štruktúry a konformačných stavov NADP^+ -závislých IDH. A. Otvorená (neaktívna) konformácia podjednotiek IDH s naviazaným kofaktorom. B. Zatvorená (aktívna) konformácia podjednotiek IDH s naviazaným kofaktorom NADP^+ , izocitrátom a iónom kovu. Podjednotka je tvorená malou, svrkovou a veľkou doménou. Aktívne miesto je vo väčšej ryhe. Upravené podľa (cit.⁵). Vytvorené pomocou Biorender.com

β -karboxylom. Túto funkciu plnia rezíduá $\text{IDH1}^{\text{R132}}$, analogické rezíduum $\text{IDH2}^{\text{R172}}$ a tiež $\text{IDH1}^{\text{R100}}$ a $\text{IDH2}^{\text{R140}}$ nachádzajúce sa v ich blízkosti⁶. Zároveň $\text{IDH1}^{\text{R132}}$ vytvára vodíkovú väzbu s $\text{IDH1}^{\text{D275}}$ v rámci jednej podjednotky a väzbu s $\text{IDH1}^{\text{D279}}$ na druhej podjednotke, čo plní úlohu zarážky držiacej enzým v otvorenej konformácii, ktorá je odstránená vstupom izocitrátu, čo spôsobí zatvorenie enzýmu a nadobudnutie aktívneho stavu^{7,8}.

2.1. Onkogénne formy izocitrátdehydrogenázy

Kľúčový faktor pre iniciáciu a progresiu rakoviny je reprogramovanie metabolizmu⁹. Mutácia metabolického enzýmu je však primárnou príčinou transformácie vzácne – napr. mutácia v enzýmoch Krebsovho cyklu, ako sú fumaráthydratáza a sukcinátdehydrogenáza, pri ktorých dochádza k strate funkcie enzýmu¹⁰. Iný mechanizmus možno pozorovať v prípade metabolického enzýmu IDH, kedy má mutácia v aktívnom mieste enzýmu za následok získanie novej funkcie enzýmu¹¹.

Prvýkrát bola objavená *missense* mutácia $\text{IDH1}^{\text{R132C}}$ pri štúdiu molekulárneho mechanizmu vzniku kolorektálneho karcinómu¹². Nasledovala detekcia mutácií $\text{IDH1}^{\text{R132C}}$, $\text{IDH1}^{\text{R132H}}$, $\text{IDH1}^{\text{R132S}}$, $\text{IDH1}^{\text{R132L}}$ a $\text{IDH2}^{\text{R172X}}$ v glioblastómoch^{13,14}. Mutácie v IDH1 a IDH2 sú však asociované s veľkým množstvom typov rakoviny, medzi ktoré patrí glióm, akútna myeloidná leukémia (AML), chondrosarkóm, karcinóm prostaty, papilárny karcinóm prsníka, cholangiokarcinóm alebo melanóm¹⁵ (tab. I v Doplnku práce). Najčastejšie sa vyskytujúce sú mutácie $\text{IDH1}^{\text{R132H}}$ a $\text{IDH2}^{\text{R140Q}}$ alebo $\text{IDH2}^{\text{R172K}}$ (cit.⁴). V IDH1 a IDH2 sa podarilo zaznamenať aj iné *missense* mutácie mimo aktívneho miesta enzýmu, avšak bez efektu na získanie novej funkcie enzýmu¹⁶.

Všetky spomínané mutácie v IDH1 a IDH2 sú somatického charakteru a vznikli náhodne v konkrétnom tkanive počas života⁴. Odlišný mechanizmus bol pozorovaný pri vrodených ochoreniach nededičného charakteru – Ollierovej chorobe a Maffucciho syndróme, ktoré vykazujú znaky somatického mozaicizmu. Sú typické nezhubnými nádormi (enchondróm, hemangióm) s IDH^{onc} pozadím. Možná je ich následná malígna transformácia alebo vznik sekundárnych malígnych transformácií (AML, gliómy)¹⁷.

Pri nádoroch boli zaznamenané mutácie aj v podjednotkách IDH3, ale ide len o sprievodné mutácie bez iniciačného potenciálu pôsobiť karcinogénne¹⁸. Vplyv na transformáciu buniek alebo progresiu nádoru však môže mať aj zmena produkcie podjednotiek IDH3, resp. môže dochádzať ku korelácii produkcie jednotlivých podjednotiek s prognózou ochorenia¹⁹.

2.2. Neomorfná aktivita onkogénnej izocitrátdehydrogenázy

Somatická *missense* mutácia v aktívnom mieste enzýmu sa vyskytuje výhradne v heterozygotnom stave na jednej z dvoch alieli génu *IDH1* alebo *IDH2*. V dôsledku mutácie sa zhoršuje interakcia aktívneho miesta enzýmu so substrátom izocitrátom. Namiesto izocitrátu, ktorý sa má premieňať na α -KG, sa preferenčne začne viazať do aktívneho centra práve α -KG a ten je premieňaný na D-2HG, pričom reakcia je sprevádzaná spotrebovaním NADPH (cit.^{3,8,11}). Okrem D-2HG existuje aj L-2HG, čo je dané hydroxylovou skupinou viazanou na druhý uhlík 5-uhlíkateho aniónu kyseliny 2-hydroxyglutarátu²¹. Na rozdiel od D-2HG však s IDH^{onc} vznik molekuly L-2HG asociované nie je^{6,11}. Zapojenie enzymatickej aktivity IDH^{onc} do kontextu štandardných IDH je znázornené na

obr. 2. Produkcia D-2HG pri výskyte formy IDH^{onc} je 10–100násobne vyššia, ako za fyziologických podmienok a koncentrácia D-2HG sa pohybuje okolo $0,005\text{--}0,035\text{ mol m}^{-3}$ (cit. ^{11,22,23}). Mutácia $IDH1^{R132H}$ vedie k produkcii porovnateľne vysokého množstva D-2HG ako jej analogická mutácia $IDH2^{R140Q}$, na rozdiel od mutácie $IDH2^{R140Q}$, ktorá má na produkciu D-2HG menší vplyv²⁰. D-2HG sa hromadí v nádore, ale môže byť exportovaný aj do extracelulárneho priestoru a následne detegovaný v telových tekutinách, krvnom sére ako aj v cerebrospinálnom moku pacientov^{24,25}.

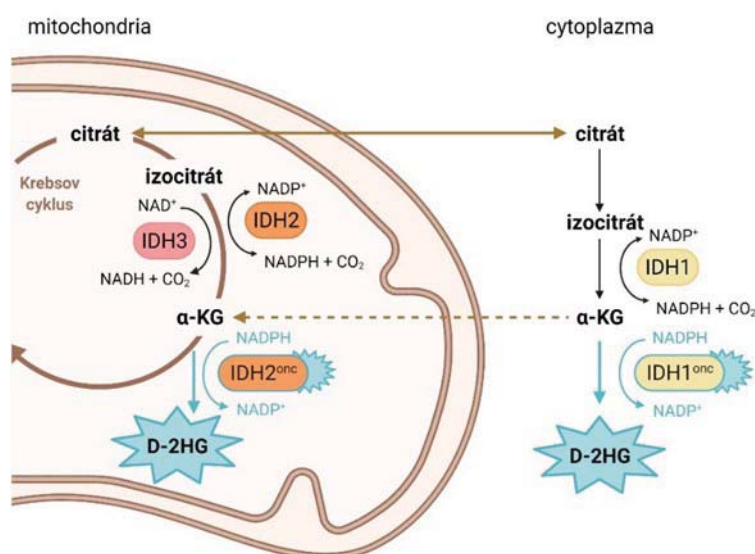
Mutácia len v jednej alele génu umožňuje vznik štandardnej, ako aj mutantnej podjednotky enzýmu⁴. V *in vitro* podmienkach vykazujú mutant $IDH1^{R132H}$ vyššiu produkciu D-2HG pri nadbytku substrátu v homodimernom i heterodimernom stave v porovnaní so štandardným enzýmom^{8,26}. Bola snaha identifikovať, či je diména štruktúra esenciálna pre vykonávanie neormorfnej aktivity. Nezávislosť produkcie D-2HG od štandardnej podjednotky dokázal experiment s inaktíváciou štandardnej, ako aj mutantnej podjednotky, no tiež použitie monomérskej bakteriálnej IDH druhu *Azotobacter vinelii* s vnesenou mutáciou IDH^{R547H} (analogická k $IDH1^{R132H}$) (cit. ⁸). V prípade fyziologických podmienok v bunke je však množstvo substrátu limitované a mutantná $IDH1$ v komplexe so štandardnou podjednotkou produkuje viac D-2HG, nakoľko štandardná podjednotka v heterodimernom komplexe viaže izocitrát a katalyzuje jeho premenu na α -KG a ten rovno viaže mutantnú podjednotku a premieňa ho na D-2HG. V bunke však existuje rozdiel medzi prostredím cytosolickej $IDH1$ a mitochondriálnej $IDH2$, ktorý spočíva v odlišnej koncentrácii izocitrátu. Aktivita $IDH2^{onc}$ v prostredí bohatom na izocitrát aj α -KG nie je závislá od heterodimérnej štruktúry poskytujúcej aktivitu štandardnej podjednotky²⁰. $IDH1$ v prostredí s nižšou hladinou substrátu profituje z aktivity

štandardnej podjednotky. Význam heterodimérnej štruktúry $IDH1$ je potvrdený aj na glióme, v ktorom dochádzalo pri strate štandardnej podjednotky k 14násobnému zníženiu produkcie D-2HG (cit. ²⁷).

Existuje viacero hypotéz vysvetľujúcich mechanizmus účinku mutácie v IDH na zisk novej funkcie. Jedna z prvých vychádza z úlohy R132 ako západky držiacej enzým v otvorenej konformácii a navrhuje posunutie rovnováhy smerom k zatvorenej konformácii. Zmena R132H spôsobuje stratu schopnosti väzby medzi R132 a β -karboxylom izocitrátu, čo je sprevádzané prestavbou aktívneho miesta a k posunu kritických pozícií. Presunuté sú Y139 v jednej podjednotke a K212 v druhej podjednotke. Na mieste, kde by sa mal nachádzať β -hydroxyl izocitrátu, sa v dôsledku mutácie nachádza hydroxylová skupina Y139 (cit. ¹¹). Je to však v rozpore s ďalším pozorovaním zhoršenej schopnosti tvorby zatvorenej konformácie v inej štúdii, v ktorej bolo preorganizovanie aktívneho miesta spájané s významom Y139 pre kompenzáciu zvýšeného negatívneho náboja na C2 atóme α -KG počas prenosu hydridového aniónu z NADPH na α -KG, kľúčového pre vznik D-2HG. V prípade účinku mutácie $IDH2^{R140Q}$ je kľúčovým parametrom zväčšenie vzdialenosti pre kľúčové prídanie β -karboxylu v procese konverzie α -KG na izocitrát⁷.

3. Účinok D-2-hydroxyglutarátu na bunku

Metabolit D-2HG vznikajúci ako produkt neormorfnej reakcie katalyzovanej IDH^{onc} vystupuje v bunke ako onkometabolit a ovplyvňuje široké spektrum bunkových procesov³. Hromadiaci sa D-2HG v nádoroch interferuje s celým spektrom enzýmov, najmä s α -KG-závislými dioxygenázami. Rozdiel v štruktúre spočíva len v jednej funkčnej sku-



Obr. 2. Schéma enzymatických aktivít ľudských izocitrátdehydrogenáz v štandardnom aj mutantnom variante. Účinkom onkogénnej $IDH1^{onc}$ a $IDH2^{onc}$ dochádza k syntéze onkometabolitu D-2HG. Vytvorené pomocou Biorender.com

pine na C2, a to kyslíku u α -KG a hydroxylovej skupine D-2HG, preto môže D-2HG vystupovať ako kompetitívny inhibítor enzýmov využívajúcich α -KG (cit.²³). V ľudskom genóme je približne 60 rôznych α -KG-závislých dioxygenáz a spektrum funkcií, ktoré tieto enzýmy plnia je veľmi široké. Inhibované môžu byť histón demetylázy, DNA metyltransferázy alebo *ten-eleven translocation* (TET) 5-metylcytozínhydroxylázy, čo spôsobuje masívne epigenetické zmeny. Vplyv má D-2HG aj na prolylhydroxylázy, čím dochádza k akumulácii hypoxiou-indukovaného faktoru 1a (HIF-1a), čo navodzuje stav podobný podmienkam hypoxie a vedie k narušeniu schopnosti diferenciácie buniek. Zoznam funkcií bunky ovplyvnených D-2HG obsahuje tiež opravu DNA, metabolizmus mastných kyselín a reguláciu tvorby kolagénu²³.

Okrem α -KG je chemická štruktúra D-2HG podobná aj štruktúre sukcinátu a fumarátu – substrátom enzýmov Krebsovho cyklu sukcinátdehydrogenáza a fumaráthydratáza. D-2HG pôsobí ako kompetitívny inhibítor týchto enzýmov, čo spôsobuje akumuláciu sukcinátu a fumarátu, ktoré sa z energetického hľadiska môžu premeniť späť na sukcinyl-CoA. To vedie k zvýšeniu koncentrácie donoru sukcinylvej skupiny – sukcinyl-CoA (cit.²⁸). Sukcinylácia ako posttranslačná modifikácia proteínov prebieha najmä neenzymaticky, a preto je priamo úmerná od koncentrácie donoru²⁹. Dôsledkom hypersukcinylácie je poškodenie mitochondriálnych funkcií a u nádorových buniek aj navodenie rezistencie voči apoptóze²⁸.

4. Terapia nádorových ochorení asociovaných s onkogénnou izocitrátdehydrogenázou

Nádorové ochorenia asociované s IDH^{onc} disponujú špecifickými charakteristikami, ktoré môžu byť vhodným terčom terapie. Jednou z terapeutických stratégií na elimináciu negatívnych dopadov IDH^{onc} a rekonštrukciu pôvodného stavu je využitie hypometylačných agensov. Azacitidín je analógom cytidínu a decitabín je deoxyderivátom azacitidínu. Účinok azacitidínu na xenograft u myši derivovaný z IDH^{onc} ľudského gliómu sa prejavil na znížení metylácie promotórových oblastí, indukciu diferenciácie gliových buniek, redukcii proliferácie a znížení rastu nádoru³⁰. Inhibícia DNA metyltransferáz látkami ako azacitidín alebo decitabín ukázala sľubné výsledky tiež u AML, ako aj u myelodysplastického syndrómu, ktoré sú všeobecne ťažko liečiteľné. Účinok azacitidínu sa v III. fáze klinických skúšok prejavil významným zvýšením celkového prežívania pacientov³¹.

Nakoľko IDH^{onc} je neoantigén cudzí zdravým bunkám a jeho prítomnosť je viazaná výhradne na nádorové bunky, je vhodným cieľom imunoterapie. Zároveň je produkovaný vo veľkom množstve, nakoľko ide o enzým dôležitý pre metabolizmus. Antigen je navyše vysoko uniformný a obsahuje vhodný epitop využiteľný pri vakcinácii. Experimenty s anti-IDH1^{R132H} vakcináciou na humanizovanom modeli myši využívali ako cieľ terapie priamo mutančný epitop a rozpoznanie prostredníctvom T-bunko-

vej imunity³². Po pozitívnych výsledkoch na zvieracom modeli sa začali realizovať klinické skúšky I. stupňa vakcíny označenej ako NOA-16. Ide o peptidovú vakcínu proti IDH1^{R132H} podávanú pacientom s novo diagnostikovaným astrocytómom III. a IV. kategórie. Po podaní vakcíny bol zaznamenaný vznik T-bunkovej alebo protilátkovej imunity až u 93,3 % pacientov³³.

4.1. Chemoterapeutiká špecificky cieleň na onkogénnu izocitrátdehydrogenázu

Pri navrhovaní liečiva špecifického voči IDH^{onc} je potrebné zvážiť viacero faktorov. Kompetitívny inhibítor namierený na miesta viažuce NADP⁺ alebo α -KG by mohol interferovať s funkciou akéhokoľvek enzýmu interagujúceho s NADP⁺ alebo α -KG a tak aj samotná účinnosť liečiva *in vivo* by bola z dôvodu nešpecifickej väzby variabilná. Zároveň by takto dochádzalo k inhibícii aj samotnej štandardnej IDH, čo by malo dopad na celkový metabolizmus⁴.

Mutácia nastáva len v jednej alele génu, a preto je väčšina molekúl IDH^{onc} tvorená heterodimérom²². Zacielenie liečiva musí byť špecifické len na mutančný enzým a na to je vhodné využiť vlastnosť špecifickú pre IDH^{onc} enzýmov – zníženú stabilitu. V IDH1 plní funkciu regulačného segmentu α -helix (označovaný ako α 10) tvorený rezíduami 271-286 malej domény podjednotiek⁵. Za štandardných podmienok bráni prístupu inhibítora enzýmu k alosterickému miestu. *Missense* mutácia, napr. IDH1^{R132H}, má však za následok destabilizáciu regulačného segmentu zrušením interakcie R132:N271 a prístup inhibítora umožňuje. U IDH2 sú stabilnejšie regulačné segmenty α 10 tvorené rezíduami 311-326 a tie bránia prístupu inhibítora do alosterického miesta štandardného IDH2, ako aj IDH2^{R140Q} a IDH2^{R172K}. Analogickou interakciou k R132:N271 u IDH1 je iónová interakcia K172:N310 u IDH2, no v prípade jej prerušenia je destabilizácia len čiastočná. Navyše alosterické miesto IDH2 neobsahuje rezíduu interagujúcu priamo s inhibítorm, ako je tomu v prípade IDH1. Na rozdiel od IDH1 obsahujúcej S280 vytvárajúci interakcie s hydrofóbnym vnútrom diméru, v IDH2 je analogický I319 vytvárajúci hydrofóbné interakcie cez rozhranie diméru³⁴.

Spektrum špecifických IDH^{onc} inhibítorov v klinických štúdiách, ako aj v klinickej praxi je široké^{4,30,35–38}. Bližšie budú popísané dve chemoterapeutiká schválené na klinické použitie u pacientov s AML (zhubné nádorové ochorenie postihujúce kmeňové bunky hematopoetického systému), pri ktorom dochádza ku klonálnemu množeniu nediferencovaných myeloidných prekursorov. Výsledkom je poškodenie kostnej drene a hematopoézy. Ochorenie sa objavuje prevažne u pacientov nad 60 rokov a je spojené s enormnou molekulárnou heterogenitou, pričom u väčšiny pacientov je v rámci DNA detegovateľná viac ako 1 mutácia^{39,40}. Pre AML je typickejšia mutácia v IDH2 než v IDH1, čo je v rozpore s pomerom mutácií napr. u gliómov⁶. Výskyt IDH1^{onc} bol zaznamenaný u 8 % a IDH2^{onc} u 15 % pacientov s AML. Z nich 35 % pacientov malo vo svojej DNA mutáciu v pozícii IDH1^{R132},

54 % v IDH2^{R140} a 11 % v IDH2^{R172} (cit. ⁴¹).

Prvou voľbou liečby AML je cytotoxická chemoterapia, po ktorej môže nastať remisia. U cca 50–85 % starších pacientov však po nej zvykne nasledovať recidíva a vznik rezistentných foriem (R/R) s následnou zlou prognózou. Existuje aj skupina pacientov bez možnosti konvenčnej chemoterapie pre pridružené ochorenia, ktorí sú odkázaní na paliatívnu liečbu⁴². Pre tieto prípady v súčasnosti existuje v závislosti od genetického podkladu 5 kategórií špecifických terapeutík na liečbu AML: kyselina *all-trans* retinová, midostaurín, inhibítory poly-ADP-ribóza-polymerázy (PARP), inhibítory histón-lyzín-*N*-metyltransferázy (DOT1L) a inhibítory IDH^{onc} (cit. ⁴¹).

Medzi inhibítory IDH^{onc} používané pri R/R AML patria liečivá enasidenib a ivosidenib. Mechanizmus ich účinku nespočíva v ničení nádorových buniek, ale v znížení produkcie D-2HG a v obnovení schopnosti bunkovej diferenciácie⁴³. Prvým inhibítorm IDH^{onc} schváleným Správou potravín a liečiv (FDA) je enasidenib (AG-221) s obchodným názvom Idhifa[®]. Ide o inhibítora IDH2^{R140Q} a IDH2^{R172K} patriaci medzi triazíny – triedu heterocyklických štruktúr obsahujúcich dusík^{36,44}. Enasidenib sa viaže do alosterického miesta na rozhraní homodiméru, čo udržiava enzým v otvorenej konformácii a nedochádza ku vzniku konformácie potrebnej pre katalýzu reakcie^{7,44}. Účinnosť enasidenibu sa prejavila v *in vitro* testoch poklesom množstva D-2HG o viac ako 90 % a u pacientov s AML a s myelodysplastickým syndrómom v krvnej plazme o 98 %. Údaje z klinických skúšok I/II kategórie na pacientoch s AML preukázali celkovú mieru odpovede 38,8 % a úspešnosť úplnej remisie 19,6 %. Medián celkového prežívania bol 8,8 mesiaca. Miera prežívania sa medzi IDH2^{R140} a IDH2^{R172} nelíšila a v prípade IDH2^{R172} korelovala miera zníženia hladiny D-2HG s kompletnou remisiou⁴⁵.

Inhibítora ivosidenib (AG-120) je dostupný pod komerčným názvom TIBSOVO[®]. Vznikol optimalizáciou inhibítora AGI-5198 a patrí do triedy fenylglycínov⁴. Ivosidenib je vysoko špecifický pre inhibíciu IDH1^{R132H}, ale účinnosť inhibície je podobná aj pre zámenu aminokyseliny arginínu za cysteín, glycín, leucín alebo serín⁴³. V I. fáze klinických štúdií podávania ivosidenibu pacientom s IDH1^{onc} AML bolo pozorované zníženie úrovne D-2HG v krvnej plazme pacientov až o 99,7 % a v kostnej dreni až o 99,9 % (cit. ⁴⁶). Miera remisie bola 30,4 % a celková miera odpovede bola 41,6 %. Medián trvania odpovede bol približne 8,2 mesiaca. Zaujímavé je pozorovanie, že u 21 % pacientov s úplnou remisiou alebo s remisiou s čiastočným hematologickým zotavením dochádzalo ku poklesu priemernej frekvencie alely IDH1^{onc} v mononukleárných bunkách kostnej drene a v neutrofiloch. U pacientov bez remisie zostávala alelová frekvencia mutácie IDH1^{onc} v priebehu času stabilne zvýšená, pričom táto skutočnosť mala vplyv aj na dĺžku prežívania – pacienti s nedetekovateľnou IDH1^{onc} mali dlhšiu remisiu (11,1 oproti 6,5 mesiaca). Rozdiel bol aj v mediáne celkového prežívania (14,5 oproti 10,2 mesiaca)⁴⁷. Ivosidenib absolvoval aj klinické skúšky zamerané na jeho účinky na solídne tumory asociované s IDH1^{onc} – cholangiokarci-

nóm, chondrosarkóm a glióm. Výsledkom bolo zníženie hladiny D-2HG až o 98 % (cit. ⁴⁸). Sľubne sa javí aj kombinované využitie inhibítorov spolu s epigeneticky miernym liečivom, napr. hypometylačným agensom decitabínom⁴⁹.

5. Rezistencia voči inhibítorm onkogénnej izocitrátdehydrogenázy

Genetické analýzy uskutočnené pred podaním inhibítora IDH^{onc} odhalili niektoré mutácie súvisiace s neskôr pozorovanou primárnou rezistenciou na liečbu⁵⁰. Rezistencia na inhibítora IDH1^{onc} bola pozorovaná pri mutácii v génoch kódujúcich RTK dráhu (dráha zahŕňajúca receptor s tyrozínkinázovou aktivitou)⁴⁷. Účinok inhibítora IDH2^{onc} bol zoslabený v súvislosti s mutáciou v MAPK (mitogen-activated proteinkinase) signálnej dráhe alebo mutáciou v NRAS (typ Ras proteínu, GTPáza)⁵¹. Nakoľko výstupom tejto dráhy je aj indukcia diferenciácie⁵², podporuje to teóriu, že ovplyvnenie diferenciácie je hlavným mechanizmom účinku inhibítorov IDH^{onc} (cit. ^{51,53}).

Jedným zo spôsobov vzniku rezistencie voči liečivu môže byť aj „prepnutie izoformy“ – v prípade liečby zamierenej na IDH1^{onc} vznik onkogénnej mutácie v IDH2, a naopak. Tým sa obnoví produkcia D-2HG v bunkách, nakoľko ďalej nepodlieha inhibíciou použitým liečivom. Tento jav ilustruje možnosť kombinovanej terapie inhibítormi IDH^{onc}, napr. ivosidenibu s enasidenibom, prípadne s ďalším z inhibítorov⁵⁴.

Samostatným typom vzniku rezistencie je spontánny vznik sekundárnych mutácií v IDH1 a IDH2, ktoré navodzujú rezistenciu znemožnením väzby IDH^{onc} inhibítora na molekulu enzýmu. Tento účinok bol pozorovaný u skupiny pacientov s IDH1^{onc} aj s IDH2^{onc}-pozitívnou AML po liečbe ivosidenibom a enasidenibom^{50,55}. Vznik sekundárnej rezistencie nastal po počiatočnom účinku inhibítora prejavujúcom sa znížením úrovne D-2HG a normalizáciou krvného obrazu. Počas kontinuálne pokračujúcej terapie sa hladiny D-2HG zvýšili a nastali príznaky progresie. Príkladmi sekundárnych mutácií v IDH2 sú Q316E a I319M v rámci exónu 7 (onkogénna R140Q je v exóne 4). V tomto prípade ide o somatické mutácie v pozícii *trans* (štandardná podjednotka heterodimérnej IDH2). Účinok Q316E spočíval v strate vodíkovej väzby s enasidenibom a I319M stéricky bránil väzbe enasidenibu. Samotné mutácie Q316E a I319M nijako neprispeli ku katalýze vzniku D-2HG, len umožnili jeho syntézu mutantnou podjednotkou tým, že zabránili inhibítora viazať sa do alosterického miesta na rozhraní enzýmu a udržiavať enzým v otvorenej, neaktívnej konformácii. Kompenzačné mutácie boli pozorované aj u IDH1, napríklad S280F (analogická pozícia k I319 v IDH2), v tomto prípade v pozícii *cis* (mutantná podjednotka heterodimérnej IDH1)⁵⁵. V kombinácii so vznikom kompenzačných mutácií v IDH1 bolo pozorované umocnenie rezistencie mechanizmom primárnej rezistencie, napr. v rámci dráhy RTK (cit. ⁵⁰).

6. Záver

Za 15 rokov od objavenia prvej mutácie IDH^{onc} asociovanej s nádorovým ochorením prišlo k veľkému posunu chápania mechanizmu pôsobenia tejto mutácie na úrovni samotného enzýmu, ale tiež pôsobenia onkometabolitu D-2HG na bunku. Poznatky sa posunuli dosť ďaleko na to, aby vznikali nové spôsoby liečby. Nie je prekvapením, že súčasné terapeutické prostriedky môžu byť značne limitované vznikom rezistencií. To je však len ďalšou výzvou na ešte intenzívnejšie porozumenie procesov a navrhnutie stratégií, ako prípadné rezistencie obísť.

Internetová verzia tejto práce obsahuje navyše doplnujúcu časť. Pre vyhľadanie plnej verzie článku vrátane príslušného dodatku je potrebné otvoriť aktuálnu webovú stránku Chemických listov.

Podakovanie patrí Prof. RNDr. Lubomirovi Tomáškoví, DrSc. za vedenie projektu, odborné konzultácie, bystré postrehy, ako aj za ľudskú spoluprácu. Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Advancing University Capacity and Competence in Research, Development and Innovation, ITMS2014+: 313021X329, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja a grantov Agentúry pre podporu vedy a výskumu (APVV-19-0068), VEGA (1/0061/20) a Univerzity Komenského v Bratislave (UK/ 145/2021).

Zoznam skratiek

| | |
|--------------------|--|
| α -KG | α -ketoglutarát |
| AML | akútne myeloidná leukémia |
| D-2HG/ L-2HG | D-2-hydroxyglutarát/ L-2-hydroxyglutarát |
| DOT1L | histón-lyzín-N-metyltransferázy |
| HIF-1 α | hypoxiou-indukovaný faktor 1 α |
| IDH | izocitrátdehydrogenáza |
| IDH ^{onc} | onkogénny variant izocitrátdehydrogenázy |
| MAPK | mitogénom aktivovaná proteínkináza |
| PART | poly-ADP-ribóza-polymerázy |
| R/R | recidíva so vznikom rezistentných foriem |
| RTK | dráha zahŕňajúca receptor s tyrozínkinázovou aktivitou |
| TET | <i>ten-eleven translocation</i> 5-metylcytozín hydroxyláza |

LITERATÚRA

- Haselbeck R. J., McAlister-Henn L.: *J. Biol. Chem.* 268, 12116 (1993).
- Stoddard B. L., Cohen B. E., Brubaker M., Mesecar A. D., Koshland D. E.: *Nat. Struct. Biol.* 5, 891 (1998).
- Horbinski C.: *Acta Neuropathol.* 125, 621 (2013).
- Dang L., Su S. S. M.: *Annu. Rev. Biochem.* 86, 305 (2017).
- Xu X., Zhao J., Xu Z., Peng B., Huang Q., Arnold E., Ding J.: *J. Biol. Chem.* 279, 33946 (2004).
- Ward P. S. a 15 spoluautorov: *Cancer Cell* 17, 225 (2010).
- Yang B., Zhong C., Peng Y., Lai Z., Ding J.: *Cell Res.* 20, 1188 (2010).
- Pietrak B. a 11 spoluautorov: *Biochemistry* 50, 4804 (2011).
- Hanahan D., Weinberg R. A.: *Cell* 144, 646 (2011).
- Schmidt C., Sciacovelli M., Frezza C.: *Semin. Cell Dev. Biol.* 98, 15 (2019).
- Dang L. a 21 spoluautorov: *Nature* 462, 739 (2009).
- Sjöblom T. a 27 spoluautorov: *Science* 314, 268 (2006).
- Parsons D. W. a 32 spoluautorov: *Science* 321, 1807 (2008).
- Yan H. a 17 spoluautorov: *N. Engl. J. Med.* 360, 765 (2009).
- Cohen A. L., Holmen S. L., Colman H.: *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 13, 345 (2013).
- Ward P. S., Cross J. R., Lu C., Weigert O., Abel-Wahab O., Levine R. L., Weinstock D. M., Sharp K. A., Thompson C. B.: *Oncogene* 31, 2491 (2012).
- Amary M. F. a 17 spoluautorov: *Nat. Genet.* 43, 1262 (2011).
- Al-Khallaf H.: *Cell Biosci.* 7, 37 (2017).
- Tommasini-Ghelfi S., Murnan K., Kouri F. M., Mahajan A. S., May J. L., Stegh A. H.: *Sci. Adv.* 5, 5 (2019).
- Ward P. S., Lu C., Cross J. R., Abdel-Wahab O., Levine R. L., Schwartz G. K., Thompson C. B.: *J. Biol. Chem.* 288, 3804 (2013).
- Gibson K. M., Brink H. J. T., Schor D. S. M., Kok R. M., Bootsma A. H., Hoffmann G. F., Jakobs C.: *Pediatr. Res.* 34, 277 (1993).
- Jin G., Reitman Z. J., Spasojevic I., Batinic-Haberle I., Yang J., Schmidt-Kittler O., Bigner D. D., Yan H.: *PLoS One* 6, e16812 (2011).
- Xu W. a 19 spoluautorov: *Cancer Cell* 19, 17 (2011).
- Sellner L. a 10 spoluautorov: *Eur. J. Haematol.* 85, 457 (2010).
- Kalinina J. a 15 spoluautorov: *Clin. Cancer Res.* 22, 6256 (2016).
- Leonardi R., Subramanian C., Jackowski S., Rock C. O.: *J. Biol. Chem.* 287, 14615 (2012).
- Jin G. a 11 spoluautorov: *Cancer Res.* 73, 496 (2013).
- Li F. a 18 spoluautorov: *Mol. Cell* 60, 661 (2015).
- Zhang Z., Tan M., Xie Z., Dai L., Chen Y., Zhao Y.: *Nat. Chem. Biol.* 7, 58 (2011).
- Mondesir J., Willekens C., Touat M., de Botton S.: *J. Blood Med.* 7, 171 (2016).
- Dombret H. a 23 spoluautorov: *Blood* 126, 291 (2015).
- Schumacher T. a 27 spoluautorov: *Nature* 512, 324 (2014).
- Platten M. a 20 spoluautorov: *Neuro. Oncol.* 20, 226 (2018).
- Xie X. a 22 spoluautorov: *Structure* 25, 506 (2017).

35. Medeiros B. C., Fathi A. T., DiNardo C. D., Pollyea D. A., Chan S. M., Swords R.: *Leukemia* 31, 272 (2017).
36. Golub D., Iyengar N., Dogra S., Wong T., Bready D., Tang K., Modrek A. S., Placantonakis D. G.: *Front. Oncol.* 9, 417 (2019).
37. Liu X., Gong Y.: *Biomark. Res.* 7, 22 (2019).
38. Kaminska B., Czapski B., Guzik R., Król S. K., Gielniewski B.: *Molecules* 24, 968 (2019).
39. Papaemmanuil E. a 26 spoluautorov: *N. Engl. J. Med.* 374, 2209 (2016).
40. Saultz J., Garzon R.: *J. Clin. Med.* 5, 33 (2016).
41. Meggendorfer M., Cappelli L. V., Walter W., Haferlach C., Kern W., Falini B., Haferlach T.: *Leukemia* 32, 1249 (2018).
42. Burnett A. K.: *Hematology 2012* (2012). doi: 10.1182/asheducation-2012.1.1.
43. Popovici-Muller J. a 36 spoluautorov: *ACS Med. Chem. Lett.* 9, 300 (2018).
44. Yen K. a 41 spoluautorov: *Cancer Discov.* 7, 478 (2017).
45. Stein E. M. a 26 spoluautorov: *Blood* 133, 676 (2019).
46. Fan B., Le K., Manyak E., Liu H., Prah M., Bowden C. J., Biller S., Agresta S., Yang H.: *Blood* 126, 1310 (2015).
47. DiNardo C. D. a 39 spoluautorov: *N. Engl. J. Med.* 378, 2386 (2018).
48. Fan B. a 15 spoluautorov: *Invest. New Drugs* 38, 2 (2020).
49. Godel M., Ortone G., Anobile D. P., Pasino M., Randazzo G., Riganti C., Kopecka J.: *Pharmaceutic* 13, 762 (2021).
50. Choe S. a 28 spoluautorov: *Blood Adv.* 4, 1894 (2020).
51. Amatangelo M. D. a 17 spoluautorov: *Blood* 130, 732 (2017).
52. Seger R., Krebs E. G.: *FASEB J.* 9, 726 (1995).
53. Stein E. M. a 25 spoluautorov: *Blood* 126, 323 (2015).
54. Harding J. J. a 30 spoluautorov: *Cancer Discov.* 8, 1540 (2018).
55. Intlekofer A. M. a 27 spoluautorov: *Nature* 559, 125 (2018).

V. Vozáriková (*Department of Genetics, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava, Slovakia*): **Oncogenic Forms of Isocitrate Dehydrogenase: Mechanisms of Carcinogenesis and Development of Resistance to Chemotherapeutics**

Many types of tumors harbor a mutation in the gene for the metabolic enzyme isocitrate dehydrogenase resulting in the production of the oncometabolite D-2-hydroxy glutarate with a pleiotropic effect on the cell. The paper provides an overview of the latest knowledge of the mechanism of carcinogenesis, of specific drugs suppressing D-2-hydroxy glutarate production and of the causes of resistance complicating treatment based on specific inhibitors of oncogenic forms of isocitrate dehydrogenase.

Keywords: isocitrate dehydrogenase, oncogenic mutation, D-2-hydroxy glutarate, chemotherapy, resistance

- Vozáriková V.: *Chem. Listy* 116, 536–542 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220536>

Acknowledgements

The author wish to thank Prof. RNDr. Lubomír Tomášek, DrSc. For project management, expert consultations, insightful observations, as well as for human participation. This work was supported by the Operational Program Integrated Infrastructure for the project: Advancing University Capacity and Competence in Research, Development and Innovation, ITMS2014+:313021X329, co-financed by the European Regional Development Fund and grants from the Agency for Science and Research Support (APVV-19-0068), VEGA (1/0061/20) and Comenius University in Bratislava (UK / 145/2021).

PŮVODNÍ A METODICKÉ PRÁCE

BIOKUMULÁCIA MEDI, ŽELEZA A ZINKU U VOĽNE ŽIJÚCICH PREŽÚVAVCOV V REGIÓNE STREDNÉHO GEMERA

VLADIMÍR HISIRA^a, MARIÁN KADAŠI^a,
RÓBERT KLEIN^a, LÝDIA MESARČOVÁ^b
a JÁN POŠIVÁK^a

^a Klinika prežúvavcov, ^b Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovensko
lydia.mesarcova@uvlf.sk

Došlo 4.4.22, prijaté 25.5.22.

Kľúčové slová: parenchymatózne orgány, sval, voľne žijúce prežúvavce, stopové prvky

• <https://doi.org/10.54779/chl20220543>

Úvod

Kontaminácia životného prostredia predstavuje v súčasnosti závažný celosvetový problém. Príroda je kontaminovaná predovšetkým antropogénnou činnosťou (priemyselná, banská, vojenská, poľnohospodárska činnosť a doprava)¹. Medzi bežné kontaminanty spôsobujúce environmentálnu záťaž patria aj ťažké kovy. Niektoré ako kadmium (Cd) a olovo (Pb) nie sú pre živé organizmy esenciálne, iné ako meď (Cu), zinok (Zn), železo (Fe) alebo selén (Se) patria do skupiny takzvaných esenciálnych stopových kovov. V stopových koncentráciách sú pre živočíchy nevyhnutné a podieľajú sa na mnohých procesoch v organizme. Stopové prvky sú základnou zložkou potravy zvierat a sú potrebné pre celý rad metabolických a fyziologických procesov. Majú aktívnu úlohu v syntéze hormónov a v štruktúre niektorých enzýmov. Nielen v deficitných množstvách negatívne pôsobia na organizmus, ale aj opačne v prípadoch, kedy koncentrácie týchto prvkov niekoľkonásobne presiahnu fyziologické referenčné rozmedzie, spôsobujú intoxikácie organizmov^{2,3}. Medzi najviac znečistené regióny patria územia s rozsiahlou baníckou a hutníckou produkciou. Územie stredného Gemera (GPS N48°68'48" E20°11'07") nielen v minulosti, ale aj v súčasnosti predstavuje významný banícky región. V minulosti počas niekoľkých storočí sa tu intenzívne ťažila v prevažnej miere železná ruda, neskôr aj ortuťová

ruda a magnezit. Ťažba magnezitu sa vykonáva v tomto priestore aj v tomto období. Pôda stredného Gemera aj v dnešných časoch je bohatá na rudy mnohých kovov⁴. V prevažnej miere sa jedná o železné rudy a magnezit. Preto aj divožijúca zver je vhodným indikátorom nielen kontaminácie, ale aj odrazom bohatých minerálnych zdrojov v tejto oblasti.

Cieľom tohto sledovania je stanoviť a zhodnotiť koncentrácie medi, železa a zinku v rôznych orgánoch u voľne žijúcich prežúvavcov (jelenia a srnčia zver) a porovnať koncentrácie týchto kovov medzi jednotlivými vekovými kategóriami a pohlavím u tejto zveri.

Materiál a metodika

Sledovanie koncentrácií vybraných stopových prvkov sme robili v niekoľkých poľovných revíroch v regióne stredného Gemera na strednom Slovensku, ktorý je považovaný za významný banícky región. V minulosti sa tu počas niekoľkých storočí ťažila a spracovávala v prevažnej miere železná ruda. V súčasnosti je táto oblasť environmentálne zaťažená podnikmi, ktoré ťažia a spracovávajú magnezit (Magnezitové závody v Lubeníku a Jelšave).

Vzorky orgánov (oblička, pečeň, svalové tkanivo) jelenej a srnčej zveri rôznych vekových kategórií boli odobraté poľovníkmi po ulovení voľne žijúcich prežúvavcov (jelenia zver $n=23$ a srnčia zver $n=25$) počas poľovníckej sezóny od septembra do konca januára v rokoch 2012 až 2015. Počas odberu bol zaevidovaný vek a pohlavie ulovenej zveri. Vzorky tkanív boli odobraté a skladované pri mraziarenskej teplote ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) až do ďalšieho spracovania, ktoré prebehlo do mesiaca po odbere.

V laboratóriu boli tieto vzorky spracované pomocou mokrej mineralizácie v laboratórnom systéme Multiwave Laboratory System Milestone (Microwave Digestion System with MDR Technology, MLS-1200 Mega, Module P.N. 34100, Italia 1992). Náväzka vzoriek jednotlivých orgánov (oblička, pečeň a sval) dosahovala hodnoty od 1,3 g do 1,8 g. Po prenesení tkanív do patróny bolo pridané 6 ml HNO_3 (1:1; 65% pro analýzu, Merck KGaH, Nemecko) a 2 ml H_2O_2 (peroxid vodíka p.a. 30%, Micro-Chem, Slovensko). Táto zmes bola mineralizovaná v mineralizačnej piecke pri maximálnom tlaku 2 bary, maximálna interná teplota $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, maximálna externá teplota $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ a ventilácia počas 1 min v programe: 1. 250 W 1 min, 2. 0 W 30 s, 3. 300 W 5 min, 4. 600 W 5 min, 5. 0 W 30 s. Zmineralizované vzorky boli preliate do 25ml odmernej banky a doplnené vodou do objemu 25 ml. Každá vzorka bola mineralizovaná jedenkrát.

Koncentrácie Cu, Fe a Zn boli stanovené pomocou plameňovej atómovej absorpčnej spektroskopie (FAAS) na prístroji AAnalyst (Perkin Elmer, USA) pri vlnovej dĺžke (λ): Cu 328 nm, Fe 247,7 nm a Zn 213,9 nm. Pri

analýzách bol použitý štandardný horák Perkin-Elmer (10 cm, N040-0103) pre zmes plynov. Ako spaľovací plyn prístroj využíva acetylén a ako oxidačné činidlo vzduch dodávaný kompresorom. Bola použitá externá kalibrácia zmesným štandardom Cu-Fe-Zn o koncentrácii 0,20 ppm (Copper standard for AAS, Fluka Analytical, Sigma-Aldrich, Švajčiarsko; Iron standard for AAS, Fluka Analytical, Sigma-Aldrich, Švajčiarsko; Zinc standard for AAS, Fluka Analytical, Sigma-Aldrich, Švajčiarsko). Každá vzorka bola stanovená dvakrát. Pre Cu LOD, LOQ, CV a R^2 bolo 0,02931 mg l⁻¹, 0,08793 mg l⁻¹, 2,27 % a 0,9992; pre Fe 0,06022 mg l⁻¹, 0,18066 mg l⁻¹, 5,03 % a 0,9986 a pre Zn 0,03615 mg l⁻¹, 0,10845 mg l⁻¹, 2,95 %, 0,9994.

Štatistická analýza bola urobená pomocou štatistického softwaru Microsoft Excel (2000 Edition, Microsoft®, Inc., USA). Stanovené hodnoty boli rozdelené do skupín podľa orgánov, vekových kategórií a pohlavia. Porovnanie medzi koncentraciami týchto kovov medzi orgánmi a vekovými kategóriami bolo vykonané použitím testu ANOVA a medzi pohlaviami použitím nepárového Studentov t-testu.

Výsledky a diskusia

V obličkách jelenej zveri sme stanovili priemernú koncentráciu Cu 4,36 mg kg⁻¹, Fe 72,5 mg kg⁻¹ a Zn 27,77 mg kg⁻¹ (tab. I). V pečeni bola detegovaná priemerná koncentrácia Cu 19,65 mg kg⁻¹, Fe 131,9 mg kg⁻¹ a Zn 30,22 mg kg⁻¹ a vo svaloch Cu 1,96 mg kg⁻¹, Fe 45,09 mg kg⁻¹ a Zn 29,58 mg kg⁻¹ (tab. I). V koncentráciách dvoch ťažkých kovov (Cu a Fe) medzi jednotlivými orgánmi sme zaznamenali štatistické odchýlky ($P < 0,05$ a $P < 0,001$; tab. I). Pri porovnaní koncentrácií Cu, Fe a Zn medzi jednotlivými vekovými kategóriami priemerné hodnoty rástli s vekom, avšak štatisticky významné rozdiely neboli zaznamenané (tab. II–IV). U jednotlivých pohlaví sme v daných orgánoch detegovali takmer zhodné výsledky bez významných odchýlok (tab. II–IV).

V tomto monitoringu sme u srnčej zveri detegovali najvyššiu priemernú koncentráciu medi v pečeni 26,4 mg kg⁻¹. V obličkách priemerná koncentrácia medi

dosahovala hodnotu 4,83 mg kg⁻¹ a vo svalovom tkanive bola najnižšia, kde priemerná hodnota bola 2,1 mg kg⁻¹ (tab. I). Rovnako ako pri medi sme najvyššiu priemernú hladinu pri železe namerali v pečeni 122,83 mg kg⁻¹. V obličkách sme zaznamenali priemernú koncentráciu na úrovni 66,69 mg kg⁻¹ a vo svalovom tkanive 49,07 mg kg⁻¹ (tab. I). Pri Zn sme namerali najvyššiu priemernú koncentráciu zhodne v pečeni (29,76 mg kg⁻¹) a najnižšiu opäť vo svaloch (24,37 mg kg⁻¹; tab. I). Štatistické odchýlky boli zaznamenané iba pri koncentráciách dvoch ťažkých kovov, a to Cu a Fe, kde dosahovali hodnotu $P < 0,001$ (tab. I). Pri porovnaní koncentrácií Cu a Fe medzi jednotlivými vekovými kategóriami priemerné hodnoty rástli s pribúdajúcim vekom, avšak štatisticky významné rozdiely neboli zaznamenané (tab. II a III). Pri koncentráciách zinku sme detegovali najvyššiu koncentráciu u najmladšej vekovej skupiny so štatistickými odchýlkami, kde $P < 0,01$ (tab. IV).

Podobný monitoring vybraných ťažkých kovov sa vykonával aj u jelenej zveri ulovenej na západnom Slovensku v okrese Topoľčany, pri ktorom sa sledovali koncentrácie vybraných kovov, medzi nimi aj Cu a Zn. Priemerné hodnoty Cu dosahovali v pečeni 13,34 mg kg⁻¹, v obličkách 4,93 mg kg⁻¹ a vo svalovom tkanive 2,49 mg kg⁻¹. V prípade pečene a obličiek boli nižšie a vo svalstve naopak vyššie v porovnaní s nami získanými výsledkami. Pri Zn zaznamenali v pečeni 26,24 mg kg⁻¹, v obličkách 31,12 mg kg⁻¹ a vo svalovom tkanive 54,76 mg kg⁻¹ (cit.⁵). Koncentrácie Zn sa zhodovali s našimi výsledkami. V ďalšej štúdiu zo severovýchodnej časti Poľska sa priemerná koncentrácia Cu v pečeni jelenej zveri pohybovala v rozmedzí 6,7–8,6 mg kg⁻¹. V obličkách boli namerané priemerné hodnoty 5,0–6,5 mg kg⁻¹ a vo svalstve 1,6–1,7 mg kg⁻¹. Pri koncentráciách železa u jelenej zveri detegovali výrazné rozdiely v skúmaných orgánoch, kde priemerné hladiny Fe sa pohybovali v obličkách 64–68 mg kg⁻¹, v pečeni 25–51 mg kg⁻¹ a u srnčej zveri 82–87 mg kg⁻¹ a 26–64 mg kg⁻¹ (cit.⁶). Vo svaloch boli tieto hodnoty približne zhodné u všetkých sledovaných druhov. Priemerné koncentrácie Zn, ktoré boli detegované v poľskom monitoringu u jeleňov, sa podobali našim nameraným koncentraciám. Priemerná koncentrácia Zn vo svalovom tkanive sa

Tabuľka I

Koncentrácie ťažkých kovov u raticovej zveri v regióne stredného Gemera (mg kg⁻¹)

| Kov | Vzorka | Koncentrácia ± smerodajná odchýlka [mg kg ⁻¹] | | |
|-----|--------------|---|-------------------------------|------------------------------|
| | | oblička | pečeň | sval |
| Cu | jelenia zver | 4,36 ± 1,99 ^a | 19,65 ± 16,09 ^{a,b} | 1,96 ± 1,52 ^b |
| | srnčia zver | 4,83 ± 2,29 ^a | 26,40 ± 17,08 ^{a,b} | 2,10 ± 1,54 ^b |
| Fe | jelenia zver | 72,50 ± 30,87 ^{c,e} | 131,90 ± 44,39 ^{c,d} | 45,09 ± 16,50 ^{d,e} |
| | srnčia zver | 66,69 ± 41,00 ^c | 122,83 ± 73,61 ^{c,d} | 49,07 ± 16,85 ^d |
| Zn | jelenia zver | 27,77 ± 8,88 | 30,22 ± 5,65 | 29,58 ± 12,32 |
| | srnčia zver | 27,34 ± 8,47 | 29,76 ± 9,52 | 24,37 ± 12,35 |

P – signifikantné odchýlky priemerných hodnôt: ^{a,b,c,d} $P < 0,001$; ^e $P < 0,05$

Tabuľka II

Koncentrácie Cu u raticovej zveri – delenie podľa vekových kategórií a pohlavia (mg kg^{-1})

| Vzorka | | Koncentrácia \pm smerodajná odchýlka [mg kg^{-1}] | | | | |
|---------|--------------|--|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | | vekové skupiny jelenej zveri | | | pohlavie | |
| | | do 1 roka | 2–3 roky | nad 3 roky | samec | samica |
| Oblička | jelenia zver | 3,66 \pm 1,69 | 4,13 \pm 2,39 | 5,50 \pm 1,86 | 4,45 \pm 2,20 | 4,40 \pm 1,66 |
| | srnčia zver | 4,18 \pm 2,58 | 4,71 \pm 1,88 | 4,85 \pm 2,09 | 5,05 \pm 2,51 | 4,17 \pm 1,42 |
| Pečeň | jelenia zver | 17,36 \pm 13,30 | 19,06 \pm 19,67 | 22,27 \pm 15,81 | 22,88 \pm 17,31 | 15,05 \pm 14,37 |
| | srnčia zver | 19,63 \pm 16,41 | 26,98 \pm 15,86 | 28,52 \pm 21,04 | 26,32 \pm 17,92 | 29,99 \pm 15,06 |
| Sval | jelenia zver | 1,43 \pm 1,14 | 1,80 \pm 1,21 | 2,55 \pm 0,55 | 1,89 \pm 1,37 | 1,44 \pm 0,88 |
| | srnčia zver | 1,29 \pm 1,15 | 2,08 \pm 1,51 | 3,31 \pm 0,69 | 2,21 \pm 1,67 | 2,10 \pm 0,97 |

Tabuľka III

Koncentrácie Fe u raticovej zveri – delenie podľa vekových kategórií a pohlavia (mg kg^{-1})

| Vzorka | | Koncentrácia \pm smerodajná odchýlka [mg kg^{-1}] | | | | |
|---------|--------------|--|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| | | vekové skupiny jelenej zveri | | | pohlavie | |
| | | do 1 roka | 2–3 roky | nad 3 roky | samec | samica |
| Oblička | jelenia zver | 53,53 \pm 19,00 | 69,70 \pm 21,36 | 92,36 \pm 39,92 | 76,61 \pm 29,01 | 70,30 \pm 32,30 |
| | srnčia zver | 55,58 \pm 16,83 | 57,25 \pm 20,79 | 73,61 \pm 54,07 | 70,98 \pm 37,02 | 45,36 \pm 21,73 |
| Pečeň | jelenia zver | 100,79 \pm 28,51 | 128,68 \pm 41,04 | 162,14 \pm 43,33 | 136,45 \pm 31,72 | 125,85 \pm 59,99 |
| | srnčia zver | 117,24 \pm 54,21 | 100,99 \pm 22,51 | 161,13 \pm 101,61 | 103,42 \pm 39,85 | 104,45 \pm 29,18 |
| Sval | jelenia zver | 40,37 \pm 11,96 | 41,37 \pm 14,66 | 53,93 \pm 20,32 | 45,22 \pm 15,62 | 39,47 \pm 13,83 |
| | srnčia zver | 49,68 \pm 4,60 | 51,78 \pm 12,49 | 57,16 \pm 19,87 | 52,19 \pm 14,68 | 48,93 \pm 9,49 |

pohybovala v rozmedzí 30–45 mg kg^{-1} , v pečeni 23–38 mg kg^{-1} , v obličkách 37–42 mg kg^{-1} (cit.⁶). V ďalšej práci z roku 2005 z rovnakej lokality v Poľsku (Krajina veľkých jazier) boli stanovené koncentrácie Cu v pečeni, v obličkách a vo svalovom tkanive jelenej zveri, ktoré sa pohybovali v rozmedzí 6,4–29 mg kg^{-1} , 3,3–7,2 mg kg^{-1} a 1,9–6,4 mg kg^{-1} . Koncentrácie Zn dosahovali hodnoty v pečeni 19–43 mg kg^{-1} , v obličkách 17–41 mg kg^{-1} a vo svaloch 19–64 mg kg^{-1} (cit.⁷). V štúdiu z Nórska, kde sa stanovovala koncentrácia medi u niekoľkých voľne žijúcich prežúvavcov (los, jelenia a srnčia zver a sob), sa zistili výrazne vyššie priemerné hodnoty v porovnaní s diviачou zverou^{8,9}. Detekcia sa vykonávala v pečeni tejto zveri (2001–2003). V štúdiu, ktorú vykonali v roku 2001 v Nórsku sa stanovovali koncentrácie medi u jelenej zveri počas poľovačiek, kde priemerná koncentrácia medi v pečeni bola 20 mg kg^{-1} a najvyššia hodnota koncentrácií dosahovala 103 mg kg^{-1} . Podľa týchto nórske autorov patria koncentrácie Cu u losa a srnčej zveri medzi najvyššie v Európe. Voľne žijúce losy mali podstatne vyššiu priemernú koncentráciu Cu v pečeni 222 mg g^{-1} sušiny ako srnčia zver 112 mg g^{-1} sušiny a soby 105 mg g^{-1} sušiny⁹. V ďalšom monitoringu vo východnej časti Chorvátska sa analyzovali koncentrácie esenciálnych kovov (Cu, Zn a Fe) v obličkách jelenej zveri. Priemerná koncentrácia Cu bola 5,20 mg kg^{-1} , Zn 35,1 mg kg^{-1} a Fe 108 mg kg^{-1}

(cit.¹⁰). V slovinskej štúdiu v pečeni daničej zveri sa zistili nasledovné koncentrácie Cu 31,0 \pm 21,9 mg kg^{-1} , Zn 31,3 \pm 10,8 mg kg^{-1} a Fe 141 \pm 65 mg kg^{-1} (cit.¹¹).

V práci zo západného Nemecka najvyššia koncentrácia medi u srnčej zveri bola zaznamenaná v pečeni 24 mg kg^{-1} , čo sa zhoduje s našim sledovaním. Avšak v obličkách namerali 15 mg kg^{-1} , čo bolo trikrát vyššie ako v našej práci¹². Podobné zistenia zaznamenali aj v štúdiu, kde sa stanovovala koncentrácia medi u voľne žijúcich prežúvavcov (los, jelenia a srnčia zver a sob) v Nórsku, kde na základe tohto monitoringu zistili, že koncentrácie Cu v srnčej zveri v Nórsku patri medzi najvyššie v Európe a dosahujú priemernú hodnotu 112 mg g^{-1} sušiny⁸. V kanadskej štúdiu monitorovali koncentrácie stopových prvkov u jelenčiekov bielochoštych, kde koncentrácie Cu dosahovali vyššiu hodnotu 122 mg g^{-1} sušiny a Zn 79,9 mg g^{-1} sušiny¹³. Priemerné koncentrácie zinku u srnčej zveri, ktoré boli stanovené v Poľsku, boli najvyššie v obličkách 45–49 mg kg^{-1} , vo svaloch 28–37 mg kg^{-1} a najnižšie v pečeni 27–36 mg kg^{-1} . Priemerné hladiny Fe sa pohybovali v obličkách srnčej zveri 82–87 mg kg^{-1} a v pečeni 26–64 mg kg^{-1} . Vo svaloch boli tieto hodnoty približne zhodné u všetkých sledovaných druhov⁶. Tieto priemerné koncentrácie Fe boli v obličkách vyššie a v pečeni nižšie v porovnaní s našimi výsledkami. Počas monitoringu zo severného Slovinska u srnčej zveri bola

Tabuľka IV

Koncentrácie Zn u raticovej zveri – delenie podľa vekových kategórií a pohlavia (mg kg⁻¹)

| Vzorka | | Koncentrácia ± smerodajná odchýlka [mg kg ⁻¹] | | | | |
|---------|--------------|---|---------------------------|---------------------------|---------------|---------------|
| | | vekové skupiny jelenej zveri | | | pohlavie | |
| | | do 1 roka | 2–3 roky | do 1 roka | 2–3 roky | do 1 roka |
| Oblička | jelenia zver | 24,72 ± 3,59 | 26,08 ± 7,84 | 32,57 ± 9,92 | 32,07 ± 10,41 | 26,14 ± 4,08 |
| | srnčia zver | 29,75 ± 11,11 | 25,46 ± 7,32 | 29,33 ± 8,51 | 28,42 ± 8,83 | 24,08 ± 6,95 |
| Pečeň | jelenia zver | 27,77 ± 4,97 | 29,52 ± 6,15 | 32,86 ± 14,22 | 29,59 ± 5,25 | 31,43 ± 5,67 |
| | srnčia zver | 26,31 ± 9,33 | 30,82 ± 10,42 | 32,05 ± 7,82 | 28,81 ± 9,47 | 32,60 ± 9,96 |
| Sval | jelenia zver | 25,58 ± 6,63 | 27,01 ± 11,90 | 36,32 ± 14,59 | 30,79 ± 11,66 | 30,85 ± 15,66 |
| | srnčia zver | 39,11 ± 16,45 ^{e,f} | 20,68 ± 6,93 ^e | 16,48 ± 2,25 ^f | 25,17 ± 13,45 | 22,13 ± 9,16 |

P – signifikatné odchýlky priemerných hodnôt: ^{e,f} P < 0,01

najvyššia koncentrácia Zn stanovená vo svalu (51,6 mg kg⁻¹), nižšia v obličkách (47,1 mg kg⁻¹) a najnižšia v pečeni 32,6 mg kg⁻¹ (cit. ¹⁴).

V ďalšom monitoringu vo východnej časti Chorvátska boli detegované esenciálne kovy (Cu, Zn a Fe) v obličkách jelenej zveri. Priemerná koncentrácia Cu bola 5,20 mg kg⁻¹, Zn 35,1 mg kg⁻¹ a Fe 108 mg kg⁻¹ (cit. ¹⁰). V inej štúdií zo západného Ruska v pečeni sobov koncentrácia medi dosahovala priemernú hodnotu 98 mg kg⁻¹ a Zn 37 mg kg⁻¹ (cit. ¹⁵).

Záver

Na základe zistených výsledkov sme dospeli k záveru, že napriek rozvinutej priemyselnej výrobe (výroba magnezitu a v minulosti ťažba a spracovanie železnej rudy) región stredného Gemeru nie je nadmerne kontaminovaný sledovanými kovmi. Prezentované výsledky poukazujú na najvyššiu koncentráciu všetkých sledovaných kovov (Cu, Fe, Zn) v pečeni. Kontaminácia vonkajšieho životného prostredia týmito ťažkými kovmi na sledovanom území nebola potvrdená, ale aj napriek tomu je potrebné pokračovať v monitorovaní tunajšieho životného prostredia aj naďalej.

LITERATÚRA

1. <https://www.enviroportal.sk/environmentalne-temy/environmentalne-zataze>, stiahnuté 23. 11. 2017.
2. Kováč G., v knihe: *Choroby prežívavcov: Nedostatok mikroprvkov*, str. 481. Vydavateľstvo M&M, Prešov 2001.
3. Legát J., v knihe: *Choroby prežívavcov: Prehľad niektorých intoxikácií*, str. 736. Vydavateľstvo M&M, Prešov 2001.
4. https://www.enviroportal.sk/uploads/2011/09/article/environmentalna-regionali/ERSR_2008_TEXT.pdf, stiahnuté 21. 11. 2017.
5. Gašparik J., Massányi P., Slamečka J., Fabiš M., Jur-

čík R.: *Proceeding of 3rd. International Conference „Risk factors of food chain“*, (Massányi P., Toman, R., Lukáč, N. ed.) str. 27. Slovenská poľnohospodárska univerzita, Nitra 2003.

6. Falandysz J.: *Sci. Total Environ.* 141, 59 (1994).
7. Falandysz J., Szymczyk-Kobrzyńska K., Brzostowski A., Zalewski K., Zasadowski A.: *Food Addit. Contam.* 22, 141 (2005).
8. Vikøren T., Bernhoft A., Waaler T., Handelan K.: *J. Wildl. Dis.* 41, 225 (2005).
9. Vikøren T., Kristoffersen A. B., Lierhagen S., Handelan K.: *J. Wildl. Dis.* 47, 661 (2011).
10. Lazarus, M., Vicković I., Šoštarić B., Blanuša M.: *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 56, 233 (2005).
11. Vengušt G., Vengušt A.: *Eur. J. Wildl. Res.* 50, 59 (2004).
12. Holm J., Brehmer R. D., Müller S., Wester D.: *Fleischwirtschaft* 67, 1145 (1987).
13. Pollock B.: *Trace elements status of white-tailed deer (Odocoileus virginianus) and moose (Alces alces) in Nova Scotia*. Report prepared for the Nova Scotia Department of Natural Resources and the Canadian Cooperative Wildlife Health Centre, Nova Scotia 2006.
14. Pokorny B., Ribaric-Lasnik C.: *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.* 64, 20 (2000).
15. Bernhoft A., Waaler T., Mathiesen S. D., Flåøyen A.: *Rangifer* 22, 67 (2002).

V. Hisira, M. Kadaši, R. Klein, L. Mesarčová, and J. Pošivák (Clinic of Ruminants, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Slovakia): **Bioaccumulation of Cu, Fe and Zn in Wild Ruminants in Middle Gemer Region**

The aim of this study was to monitor trace metals (copper, iron and zinc) concentrations in parenchymatous organs and muscle tissue of red deer ($n=23$) and roe deer ($n=25$) that were hunted down in the middle Gemer region

in south central Slovakia. Being expressed in mg kg^{-1} in all cases, these concentrations assumed the following values: mean renal copper concentration in red deer was 4.36, hepatic 19.65, muscle 1.96; renal iron concentration was 72.5, hepatic 131.9, muscle 45.09; mean zinc concentration in kidney was 27.77, in liver 30.22 and in muscle 29.58, respectively. In roe deer, mean level of copper in kidney was 4.83, in the liver 26.4, in muscle tissue 2.1; mean concentration of iron in kidney was 66.69, in liver 122.83, in muscle tissue 49.07; mean concentration of zinc in kidney was 27.34, in liver 29.76, and in muscle tissue 24.37, respectively. Concentration of metals under study in different age groups showed that the values rose proportionally with age except for zinc concentration, where the highest Zn concentrations were detected in muscle of

young animals. In other trace metal levels no significant differences were detected between age groups, males or females. Based on the given results, the Revuca district does not show itself as the most polluted region considering surveyed heavy metals, but nevertheless the presented results document that the presence of heavy metals in the tissues of game is still an interesting object for the next studies.

Keywords: parenchymatous organs, muscle, wild ruminants, trace elements

- Hisira V., Kadaši M., Klein R., Mesarčová L., Pošivák J.: Chem. Listy 116, 543–547 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220543>

CHEMICKÝ PRŮMYSL

SOUČASNÉ A PLÁNOVANÉ VÝROBNÍ KAPACITY A VYUŽITÍ NÍZKOEMISNÍHO VODÍKU V EU

MARTIN ŠILHAN a PETR POLÍVKA

Centrum výzkumu Řež s.r.o., Hlavní 130, 250 68
Husinec-Řež
martin.silhan@cvrez.cz

Došlo 14.4.22, přijato 16.6.22.

Klíčová slova: vodík, elektrolyza vody, obnovitelné
zdroje, skladování energie

● <https://doi.org/10.54779/chl20220548>

Obsah

1. Úvod
2. Stávající výrobní kapacita vodíku v EU
 - 2.1. Současná elektrolytická výroba vodíku v EU
 - 2.2. Elektrolyzéry připojené do sítě elektriny
 - 2.3. Elektrolyzéry připojené přímo k obnovitelnému zdroji
3. Stávající spotřeba vodíku v EU
4. Plánovaný rozvoj výroby vodíku
5. Vývoj infrastruktury vodíku
6. Plány využití nízko- a bez-emisního vodíku v EU
 - 6.1. Průmyslová využití obecně
 - 6.2. Výroba e-paliv a rafinérský sektor
 - 6.3. Výroba amoniaku a methanolu
7. Situace v České republice
8. Závěr

1. Úvod

Rozličné vodíkové technologie jsou klíčové pro snižování emisí skleníkových plynů v energetice, průmyslu a dopravě. Cílem publikace je popsat současné hlavní trendy ve výrobě a spotřebě vodíku v EU, do značné míry na základě obsáhlého dokumentu *Clean Hydrogen Monitor* (cit.¹), který popisuje stav vodíkových projektů ke konci roku 2019 a plánované projekty v oblasti vodíkových technologií. Pro uchování přehlednosti příspěvku není tento zdroj opakovaně citován.

Vzhledem k očekávanému významu budoucí elektrolytické výroby vodíku je této technologii věnována zvýšená pozornost. Pokud je dále zmiňována elektrolyza, jedná se o elektrolytický rozklad vody, nikoliv o chlor-

alkalickou elektrolyzu, pokud není výslovně uvedeno jinak. Tato publikace se nezabývá možnostmi finanční podpory, ani podrobným popisem politik EU, nebo odlišnými přístupy jednotlivých států EU pro dekarbonizaci a stimulaci vodíkové ekonomiky. Dále je zde uveden aktuální stav v ČR se zaměřením na vodíkové technologie.

2. Stávající výrobní kapacita vodíku v EU

Ke konci roku 2019 bylo v EU 536 lokalit, které produkují vodík. Jejich celková kapacita se pohybuje kolem 12,1 Mt/rok a průměrné využití výrobních kapacit dosahuje 80 %. Při vyloučení výrob vodíku z koksárenského plynu se pak jednalo o 504 lokalit s roční kapacitou 10,5 Mt vodíku. Největší producenti, tj. Německo, Nizozemsko, Polsko a Španělsko, vyrobili přibližně polovinu vodíku z celé EU (včetně Velké Británie). Například v materiálu z roku 2020 *Vodíková strategie pro klimaticky neutrální Evropu* (cit.²) se předpokládá v roce 2030 v EU výroba 10 Mt nízkoemisního vodíku, což je množství srovnatelné se současnou výrobou obvykle vysokoemisního vodíku. Současné sdělení (duben 2022) Evropské Komise *REPowerEU* (cit.³) v reakci na potřebu rychlého odklonu od ruského plynu plánuje v roce 2030 výrobu a dovoz celkem 20,6 Mt nízkoemisního vodíku.

V současnosti zhruba 90 % trhu s vodíkem v EU ovládají firmy Air Liquide, Air Products, Linde a Messer. Za 95,5 % objemu výroby vodíku dosud stojí termické způsoby výroby z fosilních paliv (parní reforming zemního plynu, parciální oxidace, autotermní reforming a další rafinérské a petrochemické procesy), 3,9 % bylo vyrobeno chlor-alkalickou elektrolyzou, reformingem se zachycováním vzniklého CO₂ pak 0,5 % (v pouhých 3 lokalitách) a elektrolyzou vody jen 0,1 %.

2.1. Současná elektrolytická výroba vodíku v EU

Elektrolyzéry byly provozovány ve 129 lokalitách a měly celkový výkon 135 MW, 44 % této kapacity bylo postaveno v Německu (59,4 MW), Francii (11 MW), Švýcarsku (10 MW), Švédsku, Spojeném Království, Finsku (po 9 MW) a Rakousku (7 MW). Uvedená kapacita se mezi roky 2019–2021 navýšila o 45 MW. Mimo uvedených 135 MW existuje řada drobných elektrolyzérů, celková kapacita tak může být ještě o něco vyšší. Jen několik málo zprovozněných jednotek mělo kapacitu nad 1 MW. Analýza 89 elektrolyzérů s kapacitou 114 MW ukazuje, že mírně převažuje PEM elektrolyza⁴ (62 MW) nad alkalickou (50 MW) elektrolyzou⁴, zbytek jsou další elektrolytické technologie. Kapacita 85 MW se týká odběru elektriny ze sítě, 34 MW je přímo připojeno k obnovitelnému zdroji energie, 5 MW v uvedených podkategoriích kombinuje oba zdroje.

2.2. Elektrolyzéry připojené do sítě elektřiny

Náklady na elektrolytickou výrobu vodíku z elektřiny z distribuční sítě činily v roce 2020 3,75 EUR/kg vodíku (průměr zemí EU a Norska), nejnižší byly v Norsku (1,8 EUR/kg vodíku), jedny z nejvyšších pak v Německu (7,2 EUR/kg vodíku). To je způsobeno vysokým zdaněním elektrické energie, které představovalo 58 % nákladů na výrobu vodíku. Pro srovnání v Lucembursku, které má stejný trh se silovou elektrickou energií jako Německo, jsou náklady 2,27 EUR/kg vodíku. Emisní intenzita vyrobeného vodíku kopíruje energetické mixy jednotlivých zemí, téměř nulová je na Islandu, naopak nejvyšší (37,6 kg CO₂/kg vodíku) v Polsku.

2.3. Elektrolyzéry připojené přímo k obnovitelnému zdroji

Přímé připojení elektrolyzérů k obnovitelnému zdroji energie (OZE) je výhodné v tom, že vyloučí řadu nákladů, jako například poplatky spojené s využitím distribuční sítě elektrické energie nebo daně. Na druhou stranu je v takové konfiguraci výkon elektrolyzérů limitován dostupností energie z OZE a nemožností dodávky energie z distribuční sítě. Pro fotovoltaický zdroj se typicky jedná o 1000 hodin ročně podle místních klimatických podmínek. Autoři¹ odhadují cenu 3 EUR/kg vodíku pro oblasti jižní Evropy s vysokou mírou slunečního svitu nebo 2,5 EUR/kg vodíku pro oblasti Severní Evropy s dobrými přírodními podmínkami pro větrné elektrárny. Lze očekávat, že tento koncept bude stále levnější spolu s tím, jak bude docházet k masové výrobě a zlevnění elektrolyzérů. Autoři¹ dále zdůrazňují výhodu hybridních konceptů, např. využití doplňujících se OZE (fotovoltaika a větrná energie), nebo cílené poddimenzování elektrolyzérů vzhledem ke kapacitě zdroje energie a s tím spojené vyšší využití kapacity elektrolyzérů.

Uvedené ceny vodíku jsou ve shodě s naším nedávným příspěvkem (cit.⁵). Očekáváme, že klíčový faktor pro nákladovou cenu nízkoemisního vodíku z OZE budou místní klimatické podmínky dané země (sluneční svit, intenzita větru) a do značné míry také globální vývoj životnosti a cen elektrolyzérů.

3. Stávající spotřeba vodíku v EU

Celková spotřeba vodíku v EU v roce 2019 byla 8,4 Mt. Z toho se využilo 4,1 Mt v rafinériích, 2,6 Mt pro výrobu amoniaku a zbytek v dalších sektorech chemického průmyslu (například ve výrobě methanolu, peroxidu vodíku, cyklohexanu, anilinu, kaprolaktamu, oxoalkoholů, kyseliny adipové a chlorovodíkové). Významným spotřebitelem vodíku byly také průmysl metalurgický (vodík jako redukční činidlo nebo ve směsi s dusíkem jako inertní atmosféra) nebo sklářský průmysl (inertní, nebo ochranná atmosféra). Sektor dopravy spotřeboval pouhých 0,1 % vodíku. Nejvíce vodíku spotřebovaly Německo (20 %), Nizozemsko (15 %), Polsko (9 %) a Španělsko (7 %).

Zajímavé je, že mezinárodní obchod s vodíkem jak mezi státy EU, tak mimo EU, je zanedbatelný (dlouhodobý průměr cca 80 kt ročně), z pohledu mezinárodního obchodu je významný vodíkovod mezi Nizozemskem, Belgií a Francií, provozovaný firmou Air Liquide.

4. Plánovaný rozvoj výroby vodíku

Celková kapacita plánovaných elektrolyzních projektů s datem spuštění postupně v letech 2024, 2030 a 2040 byla 6 606 MW, 118 331 MW a 152 511 MW (pro 179, 420 a 429 projektů). Další kapacita 3 459 MW (pro 53 projektů) neměla specifikováno datum spuštění. Největší plánovaná kapacita k roku 2030 byla ve Španělsku (cca 74 GW), Nizozemsku (cca 11 GW), Řecku, Německu, Dánsku (všude cca 5 GW). Průměrná velikost projektu ve Španělsku je těžko představitelných více než 1000 MW, na rozdíl od Německa s plánovanou průměrnou kapacitou 93 MW. Trendem je příklon k velkým instalacím, k alkalické elektrolýze a k odpojení se od distribuční sítě elektrické energie. Překvapivý je vysoký podíl alkalických elektrolyzérů, mj. vzhledem k jejich mírně horším dynamickým vlastnostem oproti elektrolyzérům PEM, a také díky očekávanému masivnímu zlevnění PEM elektrolyzérů poté, co začnou být produkovány ve velkých sériích. Elektrolyzéry připojené přímo k OZE jsou typicky větší než ty připojené do distribuční sítě. Většina, tj. 68 %, resp. 75 % projektů, s datem spuštění 2024, resp. 2030, využije alkalickou elektrolýzu o průměrné kapacitě 42 MW, resp. 235 MW. Průměrná kapacita PEM elektrolyzních jednotek bude nižší, pro rok 2024 10 MW, v roce 2030 34 MW.

5. Rozvoj infrastruktury vodíku

Velkokapacitní infrastrukturu vodíku bude formovat především klíčová iniciativa *European Hydrogen Backbone* (cit.⁶), která předpokládá do roku 2030 vybudování 11 600 km vodíkovodu, který zpočátku propojí rozvíjející se vodíková údolí a klastry. V roce 2040 se předpokládá transformace na panevropskou síť o délce 39 700 km, sestávající z 69 % z upravených plynovodů (určených původně pro transport zemního plynu) a 31 % z nových plynovodů. Očekává se, že první transfery vodíku nastanou mezi Belgií, Nizozemskem a Německem. Do roku 2035 se plánuje připojení Francie, Itálie, Španělska a Skandinávie a v roce 2040 dojde prakticky k vodíkovému propojení celé EU.

6. Plány využití nízko- a bez-emisního vodíku v EU

6.1. Průmyslová využití obecně

Celková plánovaná roční spotřeba nízkoemisního vodíku v průmyslu EU k roku 2030 je 5,2 Mt. Největší podíl (38 %) plánuje Německo. Shodou okolností stejný

38% podíl je plánován na spotřebu v metalurgickém průmyslu v celé EU, přestože stávající technologie výroby oceli omezují spotřebu vodíku upřednostňováním výroby železa a oceli ve vysokých pecích s koksem a v elektrických obloukových pecích. Výrobci ocelí se však snaží vodík coby redukční činidlo do procesu výroby ocelí zakomponovat⁷.

Vzhledem k současným vysokým a velmi proměnlivým cenám silové elektrické energie a zemního plynu v EU a dále ke skutečnostem, že OZE se často staví bez státních podpor pro produkovanou elektrickou energii (jinými slovy nákladová cena elektřiny z OZE je nezávislá na tržní ceně silové elektrické energie), a vzhledem k omezené schopnosti přenosových soustav absorbovat další intermitentní zdroje, je pravděpodobná stále vyšší míra výrob vodíku z OZE. Očekáváme, že tato skutečnost urychlí pronikání výroby vodíku do různých oblastí průmyslu včetně zrychlení produkce chemických látek vyrobených z nízkoemisního vodíku.

6.2. Výroba e-paliv a rafinérský sektor

Jako e-palivo jsou označována uhlovodíková paliva, ve kterých uhlíková složka pochází z CO₂, při jejich výrobě je využita nízkoemisní elektřina, a která mohou být využita ve spalovacích motorech. Očekává se, že první sériová produkce e-paliv začne v roce 2024 (se spotřebou vodíku 771 kt/rok) a do roku 2030 vzroste na 912 kt/rok. Zhruba 84 % plánované produkce případně na Španělsko, menší projekty budou realizovány v Německu, Švédsku, Rakousku a Belgii. V Německu je plánovaná spotřeba vodíku pro tento sektor pouhých 48 kt/rok, i když drážďanská firma Sunfire má výrobu e-nafty technologicky dobře zvládnutou již od roku 2015 (cit.⁸).

Rafinérský sektor představuje největšího spotřebitele vodíku v EU. V roce 2023 se očekává spotřeba 136 kt/rok, v roce 2030 už 568 kt/rok. Největší spotřebu plánuje Německo (205 kt/rok), dále pak Bulharsko a Nizozemsko.

6.3. Výroba amoniaku a methanolu

Výroba amoniaku představovala v roce 2019 druhou nejvyšší spotřebu vodíku. Amoniak je klíčová průmyslová a zemědělská komodita, kromě toho se z něj stává důležitý nosič energie. Do roku 2025 jsou v EU plánovány kapacity na výrobu amoniaku se spotřebou vodíku 376 kt/rok, do roku 2030 pak 697 kt/rok. Největší podíl představuje Norsko (40 %), Nizozemsko, Dánsko a Portugalsko, 12 kt/rok plánuje Slovensko. Ve výrobě methanolu jsou plánované kapacity 535 kt/rok v roce 2030, s největším podílem Německa 265 kt/rok.

7. Situace v České republice

Vodíková strategie České republiky (cit.⁹) předpokládá v ČR využívání především elektrolytické výroby vodíku. V ČR se v roce 2020 vyrobilo 125,6 kt vodíku⁷. Veškerá uvedená produkce pochází z chemického průmyslu¹⁰

(Litvínov, Kralupy, Ostrava, Valašské Meziříčí, Ústí nad Labem) a vyrobený vodík je také na místě dále zpracován. Očekává se, že spolu s rozvojem infrastruktury pro využití vodíku bude část uvedeného vyrobeného vodíku využívána v dopravě. Zde se nabízí využití především elektrolytické vyrobeného vodíku, neboť díky jeho vysoké kvalitě je následné čištění pro použití v dopravě poměrně nenáročné.

Z plánovaných výrobních kapacit je vhodné zmínit neratovický podnik SPOLANA s.r.o., který plánuje výstavbu chlor-alkalické elektrolýzy. Očekáváme, že půjde o podobnou kapacitu výroby vodíku, jaká je instalována v Ústí nad Labem, tj. cca 3 kt/rok (cit.⁷).

ČEZ, a.s. rozvíjí až 15 projektových záměrů výroby a využití vodíku. V šesti záměrech již koná konkrétní kroky, zejména ve využití vodíku ve veřejné dopravě. Mezi další tuzemské projekty zaměřené na spotřebu vodíku patří několik vodíkových plnicích stanic, vývoj (ve fázi studie proveditelnosti) železniční lokomotivy HydrogenShunter společností CZ LOKO, a.s. (cit.¹¹) nebo vyvíjený vodíkový nákladní automobil společností TATRA TRUCKS, a.s. (cit.¹²). Očekáváme, že vodíková akumulace nahradí bateriovou akumulaci u některých nově budovaných fotovoltaických elektráren. Společnost ORLEN Unipetrol RPA, s.r.o. plánuje v roce 2022 zprovoznit několik veřejných plnicích stanic (pod stávající značkou BENZINA) na stlačený vodík, jak pro osobní, tak i pro nákladní vozidla a autobusy. Společnost Vítkovice, a. s. v červnu v Ostravě uvedla do provozu první veřejnou vodíkovou plnicí stanicí v České republice. Uvedené aktivity v současné době představují příslovečné první vlaštovky, velké projekty na výrobu vodíku v České republice chybí. Dotační politika vodíkových technologií bude vycházet teprve z národní vodíkové strategie. Případné daňové zvýhodnění nebo investiční pobídky také chybí.

8. Závěr

V EU je připravována řada skutečně rozsáhlých projektů výroby, transportu a spotřeby nízkoemisního vodíku. Obecně platí trend, že spolu s pozdějším začátkem realizace roste výrobní kapacita projektů, pravděpodobnost využití alkalické elektrolýzy a přímé připojení elektrolyzérů k OZE. Spolu s výrobou je plánována velkokapacitní přeprava vodíku jak vnitrostátní, tak i mezi státy EU, a také využití vodíku v mnoha oblastech průmyslu a dopravy, jako jsou nákladní i osobní automobilová, železniční a lodní doprava. Podobně jako v zemích EU se v ČR očekává významný nárůst elektrolytické výroby vodíku a jeho distribuce. V ČR je v současné době většina vodíku vyrobena v chemickém průmyslu a současně i spotřebována na místě výroby. Výroba a využívání vodíku tak představuje vysoký potenciál k rozvoji zelené energetiky.

LITERATURA

1. *Clean Hydrogen Monitor 2021, Hydrogen Europe*, <https://hydrogeneurope.eu/reports/>, staženo 20. 4. 2022.

2. *Sdělení Komise Evropskému parlamentu, Radě, Evropskému hospodářskému a sociálnímu výboru a výboru regionů, COM (2020) 301*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX:52020DC0301>, staženo 4. 4. 2022.
3. *Sdělení Komise Evropskému parlamentu, Radě, Evropskému hospodářskému a sociálnímu výboru a výboru regionů, COM (2022) 108*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX:52022DC0108>, staženo 13. 6. 2022.
4. Pinsky R., Sabharwall P., Hartvigsen J., O'Brien J.: *Prog. Nucl. Energy* 123, 103317 (2020).
5. Tocháčková A., Laciok A., Šilhan M.: *Chem. Listy* 115, 623 (2021).
6. *2020 European Hydrogen Backbone*, https://gasforclimate2050.eu/sdm_downloads/european-hydrogen-backbone/, staženo 4. 4. 2022.
7. <https://bellona.org/news/climate-change/2021-03-hydrogen-in-steel-production-what-is-happening-in-europe-part-one>, staženo 1. 6. 2022.
8. E-Diesel = Water + Air? It's True, Know More, <https://carbiketech.com/water-air-e-diesel/>, staženo 1. 6. 2022.
9. *Vodíková strategie České republiky*, Ministerstvo průmyslu a obchodu, https://www.mpo.cz/assets/cz/rozcestnik/pro-media/tiskove-zpravy/2021/8/Vodikova-strategie_CZ_G_2021-26-07_2.pdf, staženo 4. 4. 2022.
10. *Technologický foresight a implementační akční plán využití vodíkových technologií v energetice a průmyslu ČR, Česká vodíková platforma*, <https://www.hytep.cz/images/dokumenty-ke-stazeni/TF-a-IAP-vodik-v-energetice-a-prumyslu-CR.pdf>, staženo 4. 4. 2022.
11. CZ LOKO vyvíjí lokomotivu na vodíkový pohon, <https://www.czloko.cz/aktuality/aktuality/cz-loko-vyvi-ji-lokomotivu-na-vodikovy-pohon.htm>, staženo 1. 6. 2022
12. Hadrava J., Šilhan M., Kejla A., Polák L.: Vývoj nákladního vozidla s vodíkovým palivovým článkem, All for Power, přijato 5/2022.

**M. Šilhan and P. Polívka (Research Centre Řež):
Current and Planned Hydrogen Production Projects
and Use of Low-Emission Hydrogen within the EU**

The article describes existing as well as planned projects of hydrogen production and consumption in the EU. Hydrogen production is planned mainly in connection with low-emission sources, the use of hydrogen in transport and various areas of industry, such as the refining or petrochemical sector.

Keywords: hydrogen, water electrolysis, renewable, e-fuel, energy storage

- Šilhan M., Polívka P.: *Chem. Listy* 116, 548–551 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220548>

VÝUKA CHEMIE

SYSTÉMOVÉ ÚLOHY VO VÝUČBE ANORGANICKEJ CHÉMIE

MÁRIA GANAJOVÁ^a, IVANA SOTÁKOVÁ^a,
ZUZANA DZURIŠINOVÁ^b a HANA ČTRNÁCTOVÁ^c

^a Oddelenie didaktiky chémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Moyzesova 11, 040 01 Košice, Slovensko, ^b Gymnázium Jána Adama Raymana, Mudroňova 20, 080 01 Prešov, Slovensko, ^c Katedra učiteľství a didaktiky chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Hlavova 8, 128 43 Praha 2, Česká republika
maria.ganajova@upjs.sk

Došlo 12.1.22, prijaté 23.6.22.

Kľúčové slová: metóda SATL, systémové úlohy, výučba chémie

• <https://doi.org/10.54779/chl20220552>

Obsah

1. Úvod
2. Od tradičného spôsobu výučby k systémovému prístupu k výučbe a systémovému hodnoteniu
3. Vybrané systémové úlohy k téme s-prvky a ich zlúčeniny
4. Názory a postoje učiteľov k implementácii systémových úloh do výučby anorganickej chémie
5. Záver

1. Úvod

Žijeme v spoločnosti, ktorá sa stáva čoraz viac globalizovanou, v dôsledku čoho sme neustále pod tlakom globálnych kultúrnych, sociálnych, ekonomických, technologických či environmentálnych zmien. Preto je potrebné u žiakov rozvíjať systémové myslenie a schopnosť hľadať súvislosti, aby dokázali čeliť tomuto globalizujúcemu sa svetu, konštruktívne premýšľať o svojej budúcnosti a o úlohe, ktorú majú zohrávať pri jej formovaní¹.

Systémový prístup k výučbe rozvíjali odborníci už v 60. rokoch 20. storočia, príkladom sú publikácie^{2–5}. Nová koncepcia výučby založená na deduktívnom prístupe k prírodným vedám v nasledujúcich 70. rokoch mala za následok, že uplatňovať tento prístup vo výučbe bolo veľmi problematické.

Systémový prístup k výučbe a učeniu sa, označovaný SATL (z angl. Systemic Approach in Teaching and Learning), zaviedli Fahmy a Lagowski v roku 1997 na Texaskej univerzite v Austine⁶. Cieľom tohto prístupu je pretvárať mechanické (povrchné) učenie na zmysluplné (hlboké) učenie žiakov⁷. Tento cieľ je možné dosiahnuť rozvojom systémového myslenia v kontexte systémovo orientovaných učebných úloh⁸.

Takéto úlohy využívajú uzavreté schémy tzv. systémové diagramy, v ktorých sú pojmy priamo alebo nepriamo prepojené a vytvárajú uzavretú pojmovú štruktúru. Od žiakov sa vyžaduje analýza, zostrojenie alebo doplnenie systémového diagramu, pričom na splnenie týchto úloh by žiaci mali používať systémové myslenie a rozvíjať dôležité zručnosti, ako sú schopnosť rozlišovať pojmy, vytvárať vzťahy, analyzovať systém na základné zložky (pojmy a prepojenia) a syntetizovať tieto zložky do vzájomne prepojených subsystémov tvoriacich celok⁹. Ukazuje sa, že riešenie úloh založených na systémových diagramoch rozvíja práve také zručnosti, ako sú analýza, syntéza či hodnotenie.

Metóda SATL bola implementovaná do rôznych odborov chémie – všeobecná chémia¹⁰, anorganická, organická a analytická chémia¹¹, fyzikálna chémia¹² a biochémia¹³.

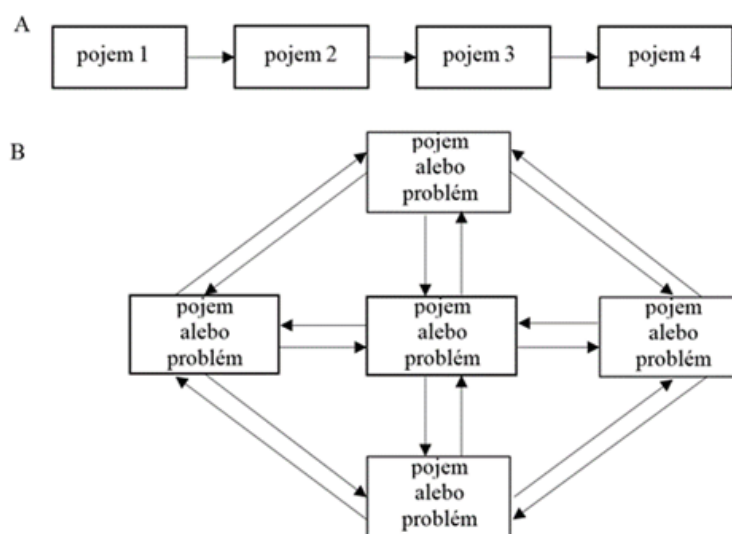
2. Od tradičného spôsobu výučby k systémovému prístupu k výučbe a systémovému hodnoteniu

Tradičný prístup k výučbe a učeniu sa zahŕňa väčšinou usporiadanie súvisiacich pojmov lineárnym spôsobom (obr. 1A). Systémový prístup k výučbe a učeniu sa (SATL) zahŕňa usporiadanie pojmov/problémov vyjadrujúce vzájomné vzťahy a súvislosti medzi nimi (obr. 1B). Schematické znázornenie týchto dvoch prístupov k výučbe a učeniu sa znázorňuje obr. 1.

Jednou z kľúčových tém vo výučbe systematickej anorganickej chémie je reaktivita prvkov a ich zlúčenín. Prostredníctvom tradičného prístupu k výučbe učiteľia žiakom prezentujú vybrané reakcie prvkov, reakcie ich zlúčenín a príslušné chemické rovnice, žiaci sa ich naučia napísať pomocou chemických značiek a vzorcov, ale často nerozumejú podstate vzťahov medzi reaktantmi, produktmi a reakčnými podmienkami. V konečnom dôsledku sa chemické rovnice len mechanicky naučia^{11,14}.

Tradičný prístup k výučbe môžeme ukázať na príklade s-prvkov. Učiteľ od žiakov vyžaduje, aby žiaci napísali chemickými rovnicami napríklad tieto deje:

- a) reakciu sodíka s vodou;
- b) neutralizáciu hydroxidu sodného kyselinou chlorovodíkovou;
- c) elektrolýzu taveniny chloridu sodného.



Obr. 1. Porovnanie lineárneho a systémového prístupu k výučbe a učeniu sa (SATL); upravené podľa cit.⁶

Od žiakov sa očakáva, že napíšu nasledovné chemické rovnice:

- $2 \text{Na} + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{NaOH} + \text{H}_2$
- $\text{NaOH} + \text{HCl} \rightarrow \text{NaCl} + \text{H}_2\text{O}$
- $2 \text{NaCl} \rightarrow 2 \text{Na} + \text{Cl}_2$

Podľa Ausubela (cit.¹⁵) sú takto naučené poznatky izolované jednotky, ktoré nesúvisia s už zavedenými pojmami v kognitívnej štruktúre.

V praxi sa stretávame s tým, že sa žiaci naučia zapísať chemické rovnice bez toho, aby porozumeli vzájomnému vzťahu medzi sodíkom a jeho zlúčeninami. Rovnako skúsenosti ukazujú, že pri tomto mechanickom učení sa žiaci nesústredia na podstatu chemických dejov, ako je substitúcia, acidobázická reakcia, elektrolyza, tepelný rozklad a i. Podľa Bloomovej taxonómie učebných úloh sú tieto úlohy zamerané na nižšie úrovne – zapamätanie a porozumenie¹¹.

Metóda SATL vychádza z pojmového mapovania, ktoré zahŕňa prvky konštruktivismu v tom zmysle, že sami žiaci spájajú nové vedomosti s už existujúcou štruktúrou vedomostí. Pre daný súbor pojmov je tak možné vytvoriť niekoľko rôznych pojmových máp. Problémom však je, že pojmové mapy sú náročné na objektívnu skórovateľnosť z hľadiska posúdenia jednoznačnosti a správnosti pojmovej mapy¹⁶. V literárnych zdrojoch nájdeme viac prístupov ku kvantifikácii a interpretácii žiakmi vytvorených pojmových máp. Väčšina autorov, napr. P. Boyer, podobne ako J. D. Novak, navrhujú neurčovať vopred jediný, konečný a nemenný počet bodov, ale vymedzujú iba postupy a kritéria, ktoré napokon určia bodový zisk jednotlivých žiakov za danú pojmovú mapu¹⁷. Vyhodnocovanie pojmových máp, hlavne v početných triedach, je časovo náročné a pre žiakov, ktorí majú silné sklony k mechanickému učeniu, môže byť stresujúce¹⁸. Johnstone a Otis¹⁹ vo svojich vý-

skumoch zistili, že medzi kvalitou pojmovej mapy a hodnotením žiaka neexistuje relevantný vzťah a pojmová mapa je subjektívnou záležitosťou každého žiaka.

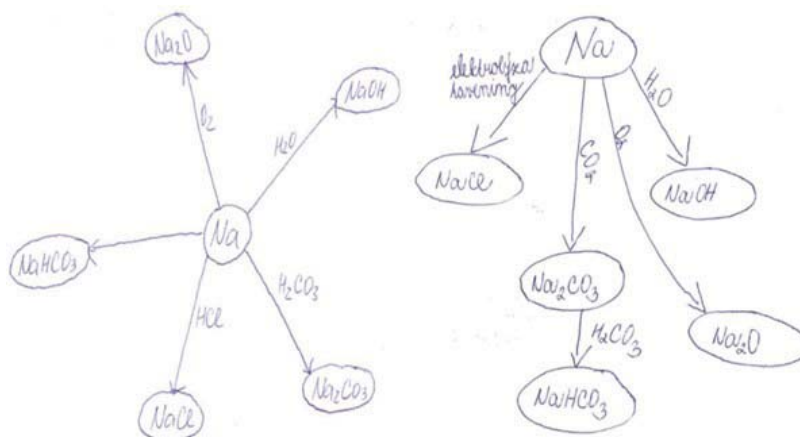
Uvedené skutočnosti možno vysvetliť na nasledovnom príklade: Ak žiakom zadáme úlohu, aby vytvorili pojmovú mapu z nasledovných pojmov (chemických látok): Na, NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃, NaCl, Na₂O a Na₂O₂ so zdôraznením na reakčné podmienky a vzájomné vzťahy medzi látkami, môžu vytvoriť niekoľko rôznych pojmových máp, ktoré „správne“ zobrazujú vzťahy medzi daným súborom pojmov (látok) (obr. 2).

Práve z dôvodu, že existuje veľa možných pojmových máp, ktoré „správne“ zobrazujú vzťahy medzi daným súborom pojmov, pojmové mapy sa nepovažujú za vhodný hodnotiaci nástroj žiakov⁶.

Kľúčovým bodom, ktorý spája pojmové mapy a metódu SATL, je výber pojmov a ich organizácia v systéme⁷.

Metóda SATL umožňuje učiteľovi so žiakmi postupne vybudovať logickú štruktúru pojmov a poznatkov o týchto pojmoch. Začína s lineárnou štruktúrou pojmov, ktorú rozvíja do uzavretého systému. V uzavretom systémovej diagrame existujú aj implikácie viaccestných vzťahov, ktoré môžu byť „odhalené“ neskôr a v danom čase použité na účely posudzovania. V tomto zmysle uzavreté systémove diagramy sú úplné, čo je v kontraste so štandardnými pojmovými mapami⁶. Diagramy môžu obsahovať 3–6 zložiek (názvy prvkov či zlúčenín, chemické značky či chemické vzorce), pričom jednotlivé zložky systémovej diagramu musia navzájom súvisieť⁷.

Pre overovanie porozumenia a vedomostí žiakov v rámci SATL Fahmy a Lagowski⁸ zaviedli tzv. systémove hodnotenie SA (z angl. Systemic Assessment). Systémove hodnotenie má niekoľko výhod: ľahko sa skóruje, je objektívne, reliabilné (spoľahlivé) a validné (platné)⁸. Jeho



Obr. 2. Pojmové mapy vytvorené žiakmi; Zdroj: vlastné spracovanie

Tabuľka I

Typy systémových úloh a ich charakteristika

Typy systémových úloh podľa úrovne overovaných vedomostí a zručností

Úlohy na systémovú syntézu – overujú vedomosti žiakov na úrovni syntézy, teda na základe pochopenia reakčných vzťahov medzi látkami. Od žiakov vyžadujú zostrojenie systémového diagramu z daných chemických látok.

Úlohy na systémovú analýzu – overujú vedomosti žiakov na úrovni analýzy. Žiaci analyzujú chemické reakcie v systémovom diagrame.

Úlohy na systémovú syntézu a analýzu – overujú vedomosti žiakov na úrovni syntézy a analýzy. Žiaci vytvárajú schému vyjadrujúcu reakčné vzťahy a zároveň analyzujú vytvorené vzťahy v diagrame.

Typy systémových úloh podľa formy ich zadania a riešenia

Úlohy na dopĺňovanie – overujú vedomosti žiakov na úrovni syntézy. Žiaci dopĺňajú systémový diagram o chýbajúce zložky.

Úlohy na priradovanie – overujú vedomosti žiakov na úrovni syntézy. Žiaci hľadajú vzťah medzi súborom dvoch zložiek. Úlohu tvoria dva krajné stĺpce – súbor látok a reakčných podmienok a tretí stĺpec v strede, v ktorom sa z ponuky v krajných stĺpcoch vytvára systémový diagram.

Úlohy typu „pravda-nepravda“ – overujú vedomosti žiakov na úrovni porozumenia, syntézy a analýzy. Od žiakov vyžadujú posúdenie, či je systémový diagram správny alebo nie. Umožňujú v krátkom čase odpovedať na otázky týkajúce sa veľkého počtu pojmov, faktov a vzťahov.

Úlohy s možnosťou výberu z viacerých odpovedí – overujú vedomosti žiakov na úrovni analýzy, syntézy a hodnotenia. Žiaci uskutočňujú výber zo zoznamu systémových diagramov; každý systémový diagram pozostáva z troch až piatich chemických vzťahov.

Úlohy na zoradovanie – overujú vedomosti žiakov na úrovni analýzy, syntézy a hodnotenia. Od žiakov vyžadujú umiestniť text alebo vzorec v danej postupnosti do systémového diagramu.

základným nástrojom sú systémové úlohy. Uvedení autori navrhli viacero typov systémových úloh^{8,11,14,20} (tab. I).

3. Vybrané systémové úlohy k téme s-prvky a ich zlúčeniny

Uvedené typy systémových úloh boli využité pri tvorbe úloh k téme s-prvky a ich zlúčeniny zo systematickej anorganickej chémie gymnázia.

Pracovné listy so systémovými úlohami boli vytvárané v spolupráci autorov článku s ďalšími učiteľmi, pilotne overené a následne optimalizované.

Systémové úlohy sme vytvorili pre pracovné listy k témam „Sodík a jeho zlúčeniny“ a „Vápnik a jeho zlúčeniny“ v súlade s obsahovými a výkonovými štandardmi tematického celku „Prvky a ich anorganické zlúčeniny“ podľa Štátneho vzdelávacieho programu (ŠVP) pre gymnázia²¹ (SR) a Rámcového vzdelávacieho programu (RVP) pre gymnázia²² (ČR).

Cieľom úloh v pracovných listoch bolo prehĺbiť, upevniť a overiť porozumenie poznatkom o chemických reakciách sodíka a vápnika. Systémové úlohy overujú a rozvíjajú spôsobilosť žiakov určovať vzťahy a súvislosti medzi reaktantami a reakčnými podmienkami, a zručnosti, ktoré súvisia so zapisovaním chemických reakcií príslušnými chemickými rovnicami (tab. II).

Diagramy využívané v systémových úlohách (tab. II) môžu pripomínať tzv. experimentálne cykly^{23,24}. Experimentálne cykly podobne predstavujú uzavreté cykly reakcií, zahrňujúce rôzne typy premien chemických látok, v ktorých je východisková látka zároveň finálnym produktom cyklu. Napríklad v ČR pre potreby výučby boli navrhnuté cykly medi a vápnika^{23,24}. Z hľadiska uskutočnenia jednotlivých reakcií v školskom laboratóriu spĺňa bezpečnostné požiadavky (toxicita látok) iba cyklus vápnika.

Systémové úlohy sa odlišujú od experimentálnych cyklov tým, že žiaci dopĺňajú okrem látok aj reakčné podmienky (tab. II), ktoré však nemajú ponúknuté. Žiaci tu tiež musia uvažovať o všetkých produktoch chemických reakcií.

U experimentálnych cyklov sa stretávame iba s typmi úloh zameraných na syntézu, pričom u systémových úloh

aj s ďalšími typmi úloh, ako sú úlohy na priradovanie, úlohy typu „pravda-nepravda“, úlohy s možnosťou výberu z viacerých odpovedí alebo úlohy na zoradovanie. Práve tieto úlohy sú zamerané na overovanie poznatkov na vyšších úrovniach Bloomovej taxonómie.

4. Názory a postoje učiteľov k implementácii systémových úloh do výučby anorganickej chémie

Väčšina štúdií, ktoré sa týkajú metódy SATL, sú zamerané hlavne na tvorbu systémových úloh a zisťovanie efektívnosti výučby s ich implementáciou z hľadiska rozvoja konceptuálneho porozumenia^{6,25}. Názory a postoje učiteľov na tento spôsob výučby sa vo výskumoch nezisťujú.

Metóda SATL je pre slovenských učiteľov nová, a preto cieľom nášho výskumu bolo zistiť názory a postoje učiteľov k implementácii systémových úloh do výučby systematickej anorganickej chémie, ich kladné a problémové stránky.

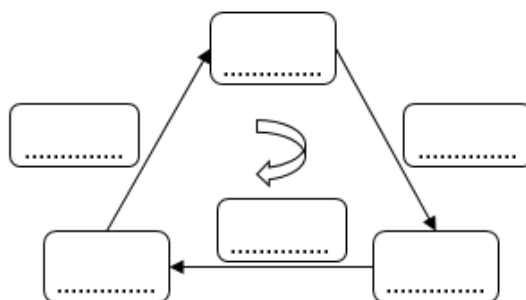
Tabuľka II

Príklady systémových úloh k téme s-prvky a ich zlúčeniny

Úloha na systémovú syntézu:

Máme k dispozícii tieto látky: Na, NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃, NaCl, Na₂O₂.

Zostrojte trojuholníkový diagram zobrazujúci chemické reakcie a reakčné podmienky medzi tromi vybranými látkami.



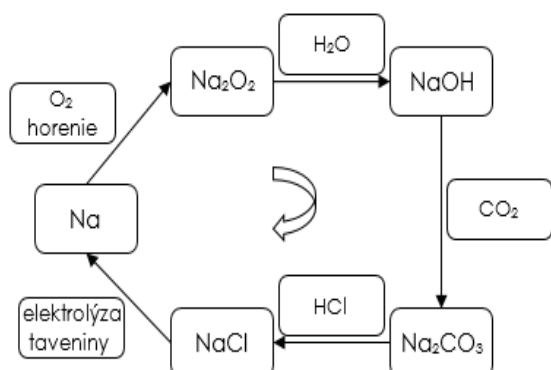
Riešenie: Z uvedených látok možno zostaviť niekoľko systémových diagramov, napr.:



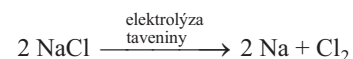
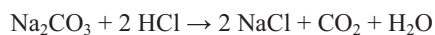
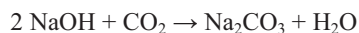
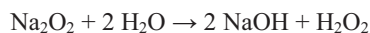
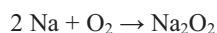
Uvedená úloha overuje poznatky na úrovni vyšších myšlienkových operácií, ako sú syntéza a hodnotenie. Žiaci okrem doplnenia látok do reakčného diagramu musia doplniť aj správne reakčné podmienky, ktoré však nemajú ponúknuté.

Úloha na systémovú analýzu:

Prepíšte systémový diagram zobrazujúci vzťahy medzi sodíkom a jeho zlúčeninami do chemických rovníc.

**Riešenie:**

Chemické rovnice:

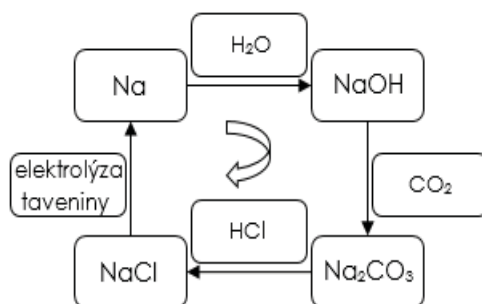


V tejto úlohe žiaci musia brať do úvahy ďalšie produkty a stechiometrické koeficienty. Úlohu môžeme rozšíriť zadaním, aby žiaci charakterizovali deje, ktoré tieto chemické rovnice popisujú.

Systémová úloha na priradovanie:

Vyberte prvky a zlúčeniny zo stĺpca A a reakčné podmienky zo stĺpca B a zostavte systémový diagram v stĺpci C.

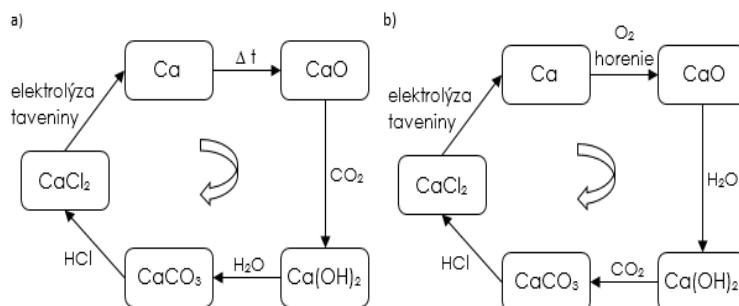
| (A) | (C) | (B) |
|---------------------------------|-----|-----------------------|
| Na | | H ₂ O |
| NaCl | | O ₂ /teplo |
| Na ₂ CO ₃ | | CO ₂ |
| NaNO ₃ | | HCl |
| Na ₂ O | | elektrolýza taveniny |
| NaOH | | HNO ₃ |

Riešenie:

V porovnaní s tradičnými priradovacími úlohami sa od žiakov vyžaduje zostavenie systémového diagramu, čo znižuje pravdepodobnosť, že správne odpovede žiakov môžu byť výsledkom tipovania. Uvedenú úlohu je vhodné využiť aj na hodnotenie, body môžeme pridelovať za správne zaradenie vybraných látok a reakčných podmienok do diagramu.

Systémová úloha s možnosťou výberu z viacerých odpovedí:

Určte, ktorý z diagramov vyjadruje správny priebeh chemických reakcií medzi vápnikom a jeho zlúčeninami. Svoj výber zdôvodnite.

**Riešenie:**

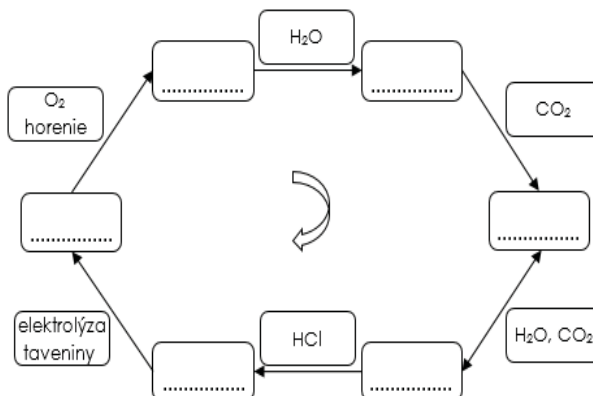
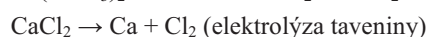
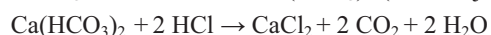
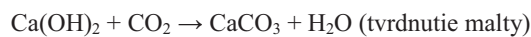
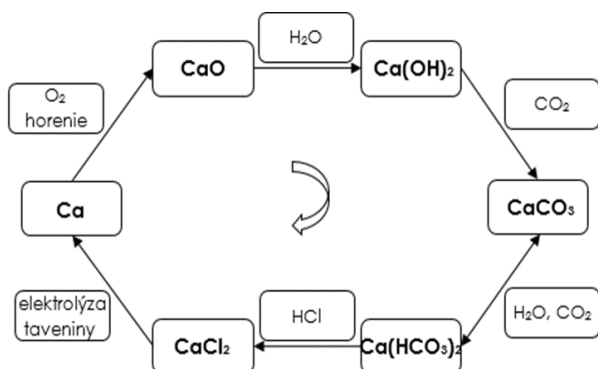
Správny je systémový diagram b). Hydroxid vápenatý vzniká reakciou CaO s vodou, a nie s CO_2 . Uhličitan vápenatý vzniká reakciou Ca(OH)_2 s CO_2 , a nie s vodou.

Od žiakov sa očakáva, že posúdia správnosť jednotlivých systémových diagramov.

Pri tejto úlohe väčšinou nevieme, či má žiak dané poznatky osvojené, nakoľko sa jedná o nápoved' pre žiaka a správna odpoveď môže byť výsledkom tipovania alebo náhody. Preto úlohu môžeme rozšíriť zadaním, aby žiaci vysvetlili a zdôvodnili svoju odpoveď.

Úloha na systémovú analýzu a syntézu:

Usporiadajte správne vápnik a jeho zlúčeniny CaO , CaCO_3 , CaCl_2 , $\text{Ca(HCO}_3)_2$, Ca(OH)_2 do nasledovného systémového diagramu. Prepíšte vytvorený systémový diagram zobrazujúci vzťahy medzi vápnikom a jeho zlúčeninami do chemických rovníc. Doplňte k chemickým rovniciam praktický význam dejov, ktoré popisujú.

**Riešenie:**

V prípravnej fáze výskumu sme vytvorili dva pracovné listy pre žiakov 2. ročníka gymnázia obsahujúce systémové úlohy pre témy „Sodík a jeho zlúčeniny“ a „Vápnik a jeho zlúčeniny“ (pozri kapitolu 3).

V realizačnej fáze výskumu vytvorené pracovné listy implementovalo do výučby 30 učiteľov počas dvoch školských rokov (2019–2021). Na tejto výučbe sa zúčastnilo spolu 687 žiakov 2. ročníka gymnázií. Výber škôl bol uskutočnený náhodne tak, aby boli zastúpené školy z celého Slovenska.

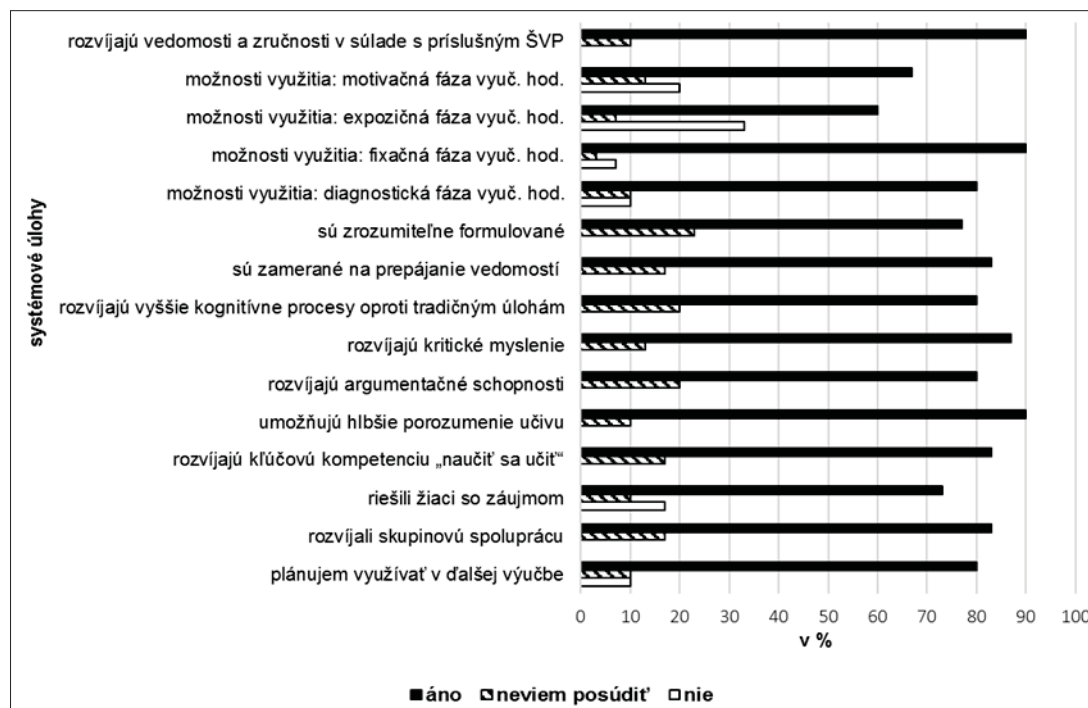
V literárnych zdrojoch^{8,11,14,20} sa nestretávame s presným hodnotením systémových úloh za účelom známkovania. Preto učitelia na základe vlastného uváženia mohli systémové úlohy implementovať do výučby buď s cieľom poskytnúť žiakom spätnú väzbu slúžiacu na zlepšenie ich procesu učenia sa, alebo za účelom sumatívneho hodnotenia, kedy napr. pridelovali body za správne zaradenie vybraných látok a reakčných podmienok do diagramu.

Názory a postoje učiteľov k pracovným listom so systémovými úlohami po ich implementácii vo výučbe boli zisťované prostredníctvom elektronického spätnoväzbového dotazníka.

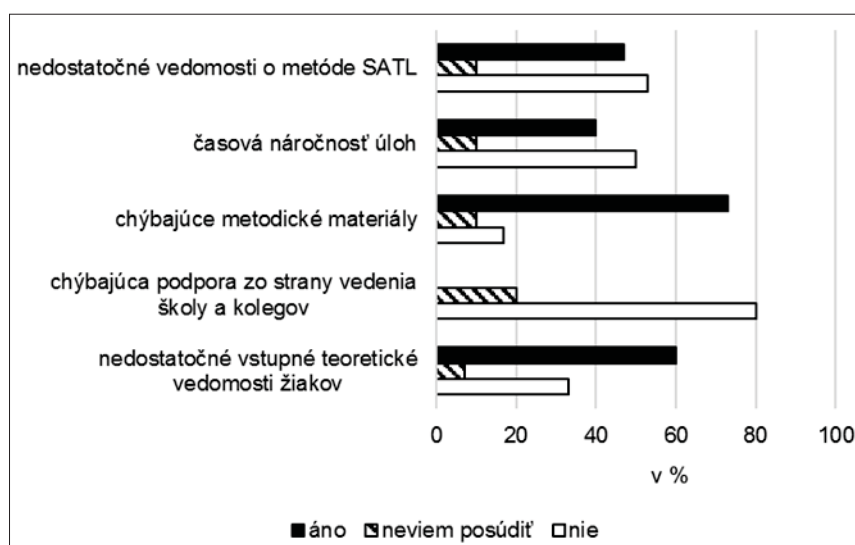
Dotazník obsahoval 17 položiek, ktoré boli rozdelené do dvoch oblastí, a to aké sú výhody implementácie systémových úloh do výučby a aké sú problémové stránky. Učitelia vyjadrovali svoje názory a postoje k jednotlivým položkám dotazníka na trojstupňovej škále „áno“, „neviem posúdiť“ a „nie“. Výsledky vyhodnotenia jednotlivých položiek dotazníka uvádzame na obr. 3.

Podľa 90 % učiteľov vytvorené systémové úlohy rozvíjajú vedomosti a zručnosti žiakov v súlade s cieľmi stanovenými príslušným ŠVP pre gymnázia²¹. To pomôže učiteľom posúdiť dosiahnuté výsledky žiakov vzhľadom na obsahové aj výkonové štandardy²⁰. Učitelia odporúčajú takéto typy úloh implementovať do výučby v rámci fixačnej fázy (90 %) za účelom upevnenia a prehĺbenia učiva alebo diagnostickej fázy (80 %), a to na overovanie vedomostí. Za kladné stránky týchto úloh považujú učitelia to, že rozvíjajú prepájanie vedomostí (83 %), kritické myslenie (87 %) a argumentačné schopnosti (80 %). Prepájanie vedomostí pomáha žiakovi vidieť pojmy nie izolovane, ale vnímať ich vo vzájomných súvislostiach s ďalšími poznatkami a pojmi¹¹. Podľa 80 % učiteľov systémové úlohy oproti tradičným úlohám rozvíjajú poznatky žiakov v rámci vyšších úrovní Bloomovej taxonómie, ako sú analýza či hodnotenie. Význam implementácie týchto úloh do výučby vidia učitelia i v tom, že poskytujú spätnú väzbu pre ďalšie učenie sa žiakov (83 %), žiak pochopí poznatky, ktorým predtým nerozumel, hlbšie porozumie učivu (90 %). Toto hĺbkové učenie sa líši od povrchného učenia, ktoré sa zameriava na pamäťové zapamätanie a povrchné chápanie pojmov^{11,26}. Podľa 73 % učiteľov žiaci o riešenie takýchto typov úloh záujem mali a pritom sa vytvoril priestor na rozvoj skupinovej spolupráce (83 %). Väčšina učiteľov (80 %) sa vyjadrilo, že plánuje využívať takéto typy úloh vo výučbe aj naďalej.

Implementácia systémových úloh do výučby naráža na niektoré problémy (obr. 4). Ako hlavné problémy sa



Obr. 3. Výhody implementácie systémových úloh do výučby; Zdroj: vlastné spracovanie



Obr. 4. Problémové stránky implementácie systémových úloh do výučby; Zdroj: vlastné spracovanie

ukazujú chýbajúce metodické materiály (73 %), čím sa myslia pracovné listy, nedostatočné vstupné teoretické vedomosti žiakov (60 %) a obavy učiteľov z implementácie metódy SATL do výučby (47 %), čo si podľa nich vyžaduje vzdelávanie. Ďalším problémom je, že niektorí žiaci nemajú hlboké vedomosti napr. o názvosloví anorganických zlúčenín, určovaní typov chemických reakcií či vyčíslňovaní chemických rovníc (t. j. výpočet stechiometrických koeficientov). Niektorí učitelia sa sťažujú na nedostatok času na riešenie systémových úloh (40 %) z dôvodu extenzívneho nárastu učebného obsahu, teda tlaku na pribúdanie poznatkov, ktoré sa majú žiaci naučiť. Učitelia sa mnohokrát snažia žiakov naučiť všetko, čo vedie iba k povrchnému učeniu. Počiatočný nezvyk žiakov na takéto typy úloh sa po 2–3 úlohách odstraňuje.

5. Záver

Učitelia na Slovensku ani v Českej republike sa doposiaľ nestretli s možnosťami implementácie systémových úloh do výučby chémie. Z názorov učiteľov na kvalitu pracovných listov so systémovými úlohami vyplynulo, že sú plne využiteľné vo výučbe systematickej anorganickej chémie. Uvítali by takto spracované pracovné listy aj pre iné témy. Učitelia vidia potenciál systémových úloh v hlbokom porozumení a rozvoji kritického a systémového myslenia žiakov, na rozdiel od učenia sa naspamäť.

Skúsenosti s tvorbou systémových úloh a poznatky z využitia systémových úloh v systematickej anorganickej chémii nás viedli k tvorbe úloh pre organickú chémiu, ktorá umožňuje oproti anorganickej chémii väčšiu rozmanitosť vychádzajúc z uplatňovania logických pravidiel

medzi zlúčeninami, reakčnými podmienkami a typmi chemických reakcií.

Táto práca bola podporená národným projektom IT Akadémia – vzdelávanie pre 21. storočie s ITMS kódom 312011F057 a grantom KEGA č. 004UPJŠ-4/2020 „Tvorba, implementácia a overovanie efektívnosti digitálnej knižnice s nástrojmi formatívneho hodnotenia pre prírodovedné predmety, matematiku a informatiku na základnej škole“.

LITERATÚRA

- Golemi S. B.: Afr. J. Chem. Educ. 7, 98 (2017).
- Bruner J. S.: *Vzdelávací proces*. SPN, Praha 1965.
- Iljina T. A.: *Systémově strukturální přístup v pedagogice*. VÚP, Praha 1972.
- Čtrnáctová H.: *Výběr a strukturace učiva chemie*. SPN, Praha 1982.
- Šimek M., Koča J.: Metoda strukturálně logické analýzy učiva. Přír. Vědy. Šk. 34(1), 20 (1983).
- Fahmy A. F. M., Lagowski J. J.: Afr. J. Chem. Educ. 1, 29 (2011).
- Hrin T., Milenković D., Kekez Babić S., Segedinac M.: Croat. J. Educ. 16, 175 (2014).
- Fahmy A. F. M., Lagowski J. J.: Afr. J. Chem. Educ. 2, 66 (2012).
- Vachliotis T., Salta K., Tzougraki C.: Res. Sci. Educ. 44 (2014).
- Cardellini L.: J. Chem. Educ. 87, 1308 (2010).
- Fahmy A. F. M.: Afr. J. Chem. Educ. 7, 2 (2017).
- Nazir M., Naqvi I.: Afr. J. Chem. Educ. 1, 59 (2011).
- Golemi S., Këçira R., Laçej D.: J. Educ. Soc. Res. 3, 106 (2013).

14. Fahmy A. F. M., Lagowski J. J.: *Afr. J. Chem. Educ.* 5, 44 (2015).
15. Ausubel D., Novak J., Hanesian H.: *Educational Psychology: A Cognitive View* (2nd ed.). Holt, Rinehart & Winston, New York 1978.
16. Schubertová R., Bednářová M.: *Scientia in Educatione* 9, 104 (2018).
17. Novak J. D., Cañas, A. J.: *Technical Report No. IHMC CmapTools 2006-01*. Florida Institute for Human and Machine Cognition, Pensacola, FL 2006.
18. Zeilik M.: *Classroom assessment techniques: Concept mapping*. University of New Mexico 1999. <http://www.flaguide.org/extra/download/cat/conmap/conmap.pdf>, stiahnuté 15. 10. 2021.
19. Johnstone A. H., Otis K. H.: *Chem. Educ. Res. Pract.* 7, 84 (2006).
20. Fahmy A. F. M., Lagowski J. J.: *Afr. J. Chem. Educ.* 4, 35 (2014).
21. *Inovovaný ŠVP pre gymnázia so štvorročným a päťročným vzdelávacím programom. Vzdelávacia oblasť: Človek a príroda – Chémia*. https://www.statpedu.sk/files/articles/dokumenty/inovovany-statny-vzdelavaci-program/chemia_g_4_5_r.pdf, stiahnuté 16. 9. 2021.
22. *Rámcový vzdelávací program pro gymnázia*. MŠMT, Praha 2007.
23. Kolář K., Bílek M., Chroustová K., Rychtera J., Machková V.: *3rd International Baltic Symposium on Science and Technology Education, BalticSTE 2019* (Lamanauskas V., ed.), str. 95. Scientia Socialis, Šiauliai 2019.
24. Kolář K., Chroustová K., Machková V.: *Project-based Education and other activating Strategies in Science Education XVII* (Rusek M., Tóthová M., Vojtíš K., ed.), str. 70. Charles University, Faculty of Education, Praha 2020.
25. Bradley J. D., Moodie P.: *Afr. J. Chem. Educ.* 7, 45 (2017).
26. Boshra Awad M.: *Afr. J. Chem. Educ.* 7, 82 (2017).

M. Ganajová^a, I. Sotáková^a, Z. Dzurišínová^b, and H. Čtrnáctová^c (^a *Department of Didactics of Chemistry, Faculty of Science, Pavol Jozef Šafárik University in Košice*, ^b *Grammar School of Ján Adam Rayman, Prešov*, ^c *Department of Teaching and Didactics of Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague*): **Systemic Tasks in the Teaching of Inorganic Chemistry**

The Systemic Approach in Teaching and Learning (SATL) involves an arrangement of concepts/problems into diagrams, which represent how they are linked. The goal of this paper is to present the systemic approach in teaching chemistry and provide examples of systemic tasks in terms of this approach on a selected topic from inorganic chemistry, i.e. s-block elements and their compounds. In accordance with SATL, systemic tasks in chemistry aim to verify and develop students' ability to determine the relationships and links between reactants and reaction conditions, as well as their ability to write down chemical reactions in the form of chemical equations. The paper compares the traditional approach to the creation of tasks, assignments, and the resulting mind maps with the systemic tasks. Thus, the evaluation of teachers' opinions on the pros and cons of the systemic tasks implementation into teaching are presented.

Keywords: SATL method, systemic tasks, chemistry teaching

- Ganajová M., Sotáková I., Dzurišínová Z., Čtrnáctová H.: *Chem. Listy* 116, 552–560 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/ch120220552>

Acknowledgements

This work was supported by the National project "IT Academy – Education for the 21st Century", ITMS code of the project: 312011F057 and by the grant KEGA No. 004UPJŠ-4/2020 "Creation, Implementation, and Verification of the Effectiveness of Digital Library with the Formative Assessment Tools for the Natural Sciences, Mathematics and Informatics at the Elementary School".



Česká společnost chemická, Sekretariát a redakce Chemických listů
Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1
tel.: 221 082 383, redakce tel. 221 082 370
e-mail: chem.spol@csvts.cz
<http://www.csch.cz>

Členské služby a výhody | Česká společnost chemická

Zapojení v České chemické společnosti, členu Asociace českých chemických společností, EuCheMS, ECTN-A a ČSVTS přináší individuálním chemikům, kromě vlastního členství v největší a nejstarší české profesní organizaci chemiků (zal. 1866):

ROZŠÍŘTE SVÉ KONTAKTY

- celosvětově uznávanou příslušnost k jedné z nejstarších profesních organizací v chemii na světě,
- možnost zapojení se do práce a komunikace v jedné z místních či odborných poboček ČSCh,
- kontakty, informace, služby, možnosti, uplatnění,...
- přístup ke službám a slevám poskytovaným členskými organizacemi EuCheMS pro členy národních organizací,
- možnost přidruženého členství v IUPAC, a z toho plynoucí sleva u nakladatelství Blackwell a na konferencích sponzorovaných IUPAC, členové IUPAC dostávají časopis Chemistry International,
- možnost získání a doporučení členské přihlášky do významných zahraničních chemických společností (RSC, ACS, GDCh, GÖCh, SFC aj.),

ZÚČASTNĚTE SE NÁRODNÍCH SJEZDŮ

- možnost zúčastnit se národních sjezdů s významnou slevou pro členy, které jsou pořádány každoročně, jednou na Slovensku jednou v ČR,

ZLEPŠETE SVOJI INFORMOVANOST

- možnost dostávat 4x ročně zdarma tzv. „bulletinové číslo“ Chemických listů v tištěné či elektronické podobě,
- možnost dostávat 4x ročně, cestou elektronické pošty, členské upozornění na nejdůležitější události a aktuality,
- volný přístup k členskému magazínu ChemViews (<http://www.chemistryviews.org/>), jehož je ČSCh spoluvlastníkem, a to i na vašem mobilním telefonu apod.,
- členské informace o nových knihách, produktech a službách i o připravovaných odborných akcích na celém světě,
- informace o dění v evropských strukturách, jako např. EuCheMS, ECTN, EC2E2N a podobně,
- přístup k elektronickým informačním médiím Společnosti,
- volný přístup k tištěným verzím časopisů ChemPubSoc Europe v „knihovně ČSCh“, kterou po dohodě s PřF UK Praha zřídila ČSCh v Knihovně chemie (sídlicí v budově Hlavova 8/2030, Praha 2, Albertov, přízemí, v místnostech č. 148, 149, 150).

ZAPOJTE SE DO ŘEŠENÍ GRANTŮ EU

- možnost participovat na řešení grantů s evropskými partnery, jako např. ECTN a partnerskými národními společnostmi.

UŠETŘETE PENÍZE

- možnost objednání předplatného Chemických listů s významnými slevami,
- podstatné slevy u vložného na sjezdech a konferencích, jejichž oficiálním pořadatelem je ČSCh,
- významnou slevu (ca 90 %) na předplatné časopisu Chemistry – A European Journal, a dalších evropských časopisů konsorcia ChemPubSoc Europe, jichž je ČSCh spolumajitelem,
- přístup ke službám a slevám poskytovaným členskými organizacemi EuCheMS pro členy národních organizací,
- možnost získání příležitostných slev obchodních firem spolupracujících s ČSCh,
- slevu při zapůjčení automobilu (až 35 %) u společností AVIS a HERTZ na celém světě, kromě Austrálie, a použití těchto automobilů na akcích v ČR za speciální tarify,
- sleva 20 % z publikačních poplatků v časopise ChemOpenChem, který společnost spoluvlastní.

ZDŮRAZNĚTE SVOJI PROFESIONALITU

- možnost zažádání o evropskou nostrifikaci chemického vzdělání a odborné praxe spojenou s udělením titulu EurChem, platného v celé EU,

BUĎTE VIDĚNI

- možnost uplatnit informace z vlastní pracovní činnosti (výsledky, novinky, inzerce, tisková oznámení aj.),
- možnost zveřejnění vlastního oznámení v rubrice Bulletinu Chemických listů „Práci hledají“,
- a řadu dalších služeb, které se teprve sjednávají,

PRO FIRMY A PODNIKATELE

- Firmám, podnikům, institucím a dalším právnickým osobám nabízí ČSCh mimo jiné i tzv. „kolektivní členství“, při kterém se ve vzájemné smlouvě sjedná to, čím mohou pomoci jedna strana druhé. Podrobnosti na dotaz.

Metrohm demonstrační laboratoř na Univerzitě Karlově



OBSAH**ÚVODNÍK**

- Predátorské časopisy podruhé** 517
B. Kratochvíl a J. Jiráť

REFERÁTY

- Zázvor, z jídelního stolu rovnou do lékárny** 519
M. Jurášek a P. Drašar

- Najvýznamnejšie sekundárne metabolity rodu *Aspergillus*** 522

- M. Harčárová, P. Nad' a M. Proškovcová

- Stanovenie biogénnych amínov vo vzorkách potravín a nápojov** 528

- I. Gerhardtová, J. Sokol, M. Maliarová, N. Martinka a T. Jankech

- Onkogénne formy izocitrátdehydrogenázy: Mechanizmy karcinogenézy a vzniku rezistencie na chemoterapeutiká** 536

- V. Vozáriková

PŮVODNÍ A METODICKÉ PRÁCE

- Biokumulácia medi, železa a zinku u voľne žijúcich prežúvavcov v regióne stredného Gemera** 543

- V. Hisira, M. Kadaši, R. Klein, L. Mesarčová a J. Pošivák

CHEMICKÝ PRŮMYSL

- Současné a plánované výrobní kapacity a využití nízkoemisního vodíku v EU** 548

- M. Šilhan a P. Polívka

VÝUKA CHEMIE

- Systémové úlohy vo výučbe anorganickej chémie** 552

- M. Ganajová, I. Sotáková, Z. Dzurišinová a H. Čtrnáctová

CONTENTS**EDITORIAL**

- Predator Journals, Revisited** 517
B. Kratochvíl and J. Jiráť

REVIEW ARTICLES

- Ginger, from the Dining Table Straight to the Pharmacy** 519

- M. Jurášek and P. Drašar

- The Most Important Secondary Metabolites of the Genus *Aspergillus*** 522

- M. Harčárová, P. Nad', and M. Proškovcová

- Determination of Biogenic Amines in Food and Beverage Samples** 528

- I. Gerhardtová, J. Sokol, M. Maliarová, N. Martinka, and T. Jankech

- Oncogenic Forms of Isocitrate Dehydrogenase: Mechanisms of Carcinogenesis and Development of Resistance to Chemotherapeutics** 536

- V. Vozáriková

ORIGINAL AND METHODOLOGICAL PAPERS

- Bioaccumulation of Cu, Fe and Zn in Wild Ruminants in Middle Gemer Region** 543

- V. Hisira, M. Kadaši, R. Klein, L. Mesarčová, and J. Pošivák

CHEMICAL INDUSTRY

- Current and Planned Hydrogen Production Projects and Use of Low-Emission Hydrogen within the EU** 548

- M. Šilhan and P. Polívka

EDUCATION IN CHEMISTRY

- Systemic Tasks in the Teaching of Inorganic Chemistry** 552

- M. Ganajová, I. Sotáková, Z. Dzurišinová, and H. Čtrnáctová

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 116 (2022), čís./no. 9 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 146, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 132 • ISSN 0009-2770, ISSN 1213-7103 (e-verze) • evidenční číslo MK ČR E 321 • Vydává Česká společnost chemická jako časopis Asociace českých chemických společností ve spolupráci s VŠCHT Praha, s ČSPCH a ÚOCHB AV ČR za finanční podpory Rady vědeckých společností ČR, Akademie věd ČR, Nadace Český literární fond a kolektivních členů ČSCH • IČO 444715 • Published by the Czech Chemical Society • VEDOUcí REDAKTOR/EDITOR-IN-CHIEF: V. Vyskočil • REDAKTORI/EDITORS: J. Barek, E. Benešová, P. Drašar, P. Holý, P. Chuchvalec, M. Jurášek, Z. Kolská, B. Kratochvíl, J. Masák, J. Podešva, P. Šmejkal; Bulletin: P. Drašar; Webové stránky: R. Liboska, V. Vyskočil • ZAHRANIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTORI/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA) • TECHNICKÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: R. Rápková • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: K. Bláha, L. Červený, E. Dibuszová, L. Grubhoffer, J. Hanika, Z. Havlas, M. Hof, Z. Hostomský, J. Káš, M. Koman, P. Konvalinka, J. Kotek, J. Koubek, J. Málek, P. Matějka, K. Melzoch, V. Pačes, M. Pospíšil, V. Růžička, P. Slaviček, I. Stibor, V. Šimánek, J. Zima, T. Zima • ADRESA PRO ZASÍLÁNÍ PŘÍSPĚVKŮ/MANUSCRIPTS IN CZECH, SLOVAK OR ENGLISH CAN BE SENT TO: Chemické listy, Novotného Lávka 5, 116 68 Praha 1; tel./phone +420 221 082 370, e-mail: chem.listy@csvts.cz • INFORMACE O PŘEDPLATNÉM, OBJEDNÁVKY, PRODEJ JEDNOTLIVÝCH ČÍSEL A INZERCE/INFORMATION ADS: Sekretariát ČSCH, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel. +420 221 082 383, e-mail: chem.spol@csvts.cz, chem.ekonom@csvts.cz • PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL: <http://www.chemicke-listy.cz> • TISK: TG TISK s.r.o., 5. května 1010, 563 01 Lanškroun • SAZBA, ZLOM: ČSCH, Chemické listy • Copyright © 2022 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 180 Kč, roční plné předplatné 2022 (12 čísel) 1810 Kč, individuální členské předplatné pro členy ČSCH 900 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 96 EUR (doručování via SCHS), individuální členské předplatné pro členy ČSCH 73 EUR (doručování via SCHS), 96 EUR + poštovné (individuální doručování), ceny jsou uvedeny včetně DPH • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG • This journal has been registered with the Copyright Clearance Center, 2322 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923, USA, where the consent and conditions can be obtained for copying the articles for personal or internal use • Pokyny pro autory najdete na <http://www.chemicke-listy.cz>, zkratky časopisů podle Chemical Abstract Service Source Index (viz <http://cassi.cas.org/search.jsp>) • Chemické listy obsahující Bulletin jsou zasílány zdarma všem individuálním a kolektivním členům ČSCH a ČSPCH v ČR i zahraničí, do všech relevantních knihoven v ČR a významným představitelům české chemie a chemického průmyslu; v rámci dohod o spolupráci i členům dalších odborných společností • Molekulární námět na obálce: V. Spiwok • Dáno do tisku 26.8.2022.

cell monitoring EVOLVED

The Millicell® DCI Digital Cell Imager

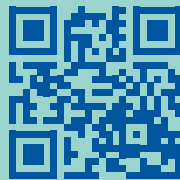
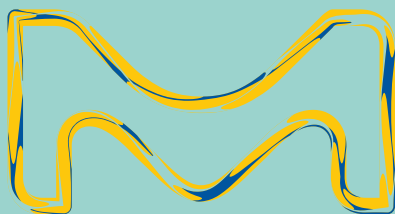
Assess your cell cultures with ease. Our Millicell® DCI instrument enables more efficient execution of the repetitive daily techniques associated with cell passaging. Quickly and objectively assess confluency, morphology, and growth trends for more consistent cell cultures.



Taking confluency to a new level.

To learn more, visit
MillicellDCI.com

Expand capabilities with off-device cloud storage and web-based application for data analysis, sorting, and smart archiving.



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

Millipore®

Preparation, Separation,
Filtration & Monitoring Products