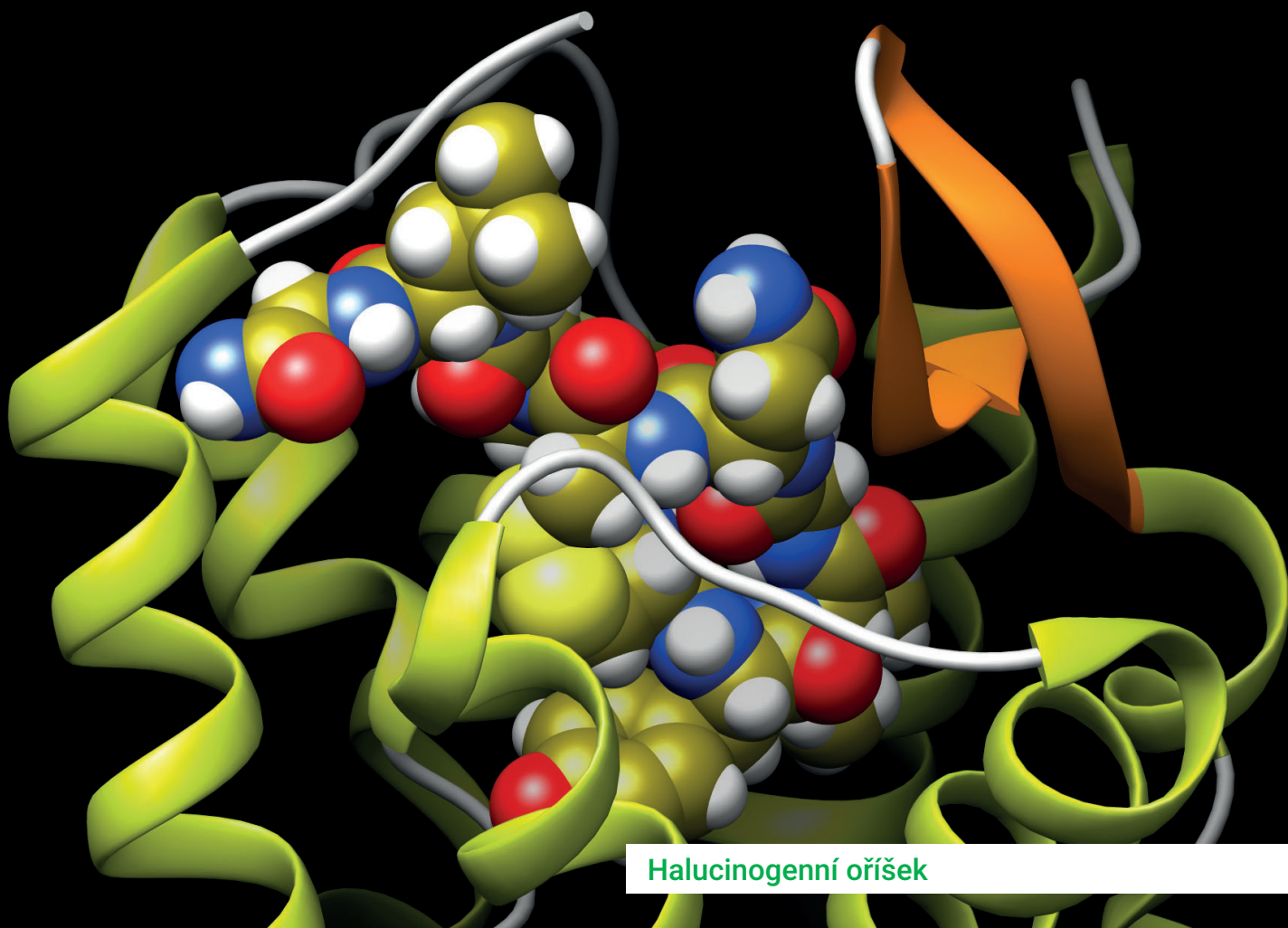


# Chemické Listy

# 6

ročník • 117



Halucinogenní oříšek

Námraza a chemie

Sledování rezistence k antibiotikům

Animace ve výuce biochemie



# Excellence in Chemistry Research



## Announcing our new flagship journal

- Gold Open Access
- Publishing charges waived
- Preprints welcome
- Edited by active scientists

## Meet the Editors of *ChemistryEurope*



**Luisa De Cola**

Università degli Studi  
di Milano Statale, Italy



**Ive Hermans**

University of  
Wisconsin-Madison, USA



**Ken Tanaka**

Tokyo Institute of  
Technology, Japan

## Chemické společnosti (jejich časopisy), Open Access a transformační smlouvy

V úvodníku Chemických listů asi není třeba rozsáhle představovat zahraniční chemické společnosti – American Chemical Society (ACS), Royal Society of Chemistry (RSC) nebo společnosti sdružené v Chemistry Europe. Stejně tak pojem Open Access (OA) je již dnes tak rozšířen, že nepotřebuje snad dalšího vysvětlování, ale co jsou přesně tzv. transformační smlouvy zmíněné v nadpisu?

Idea transformačních smluv je relativně jednoduchá – svázat dosavadní výdaje za čtení/předplatné (Read) a za OA publikování (Publish) do jedné smlouvy a zabránit tak nekontrolovanému utrácení „drobných“ částek za tzv. Article Processing Charges (<https://esac-initiative.org/about/transformative-agreements/>).

Tedy instituce (obvykle však spíše konsorcium, v Evropě nejčastěji na národní úrovni) platí vydavateli v ideálním případě přibližně stále stejnou částku jako dosud za pouhé předplatné, ale kromě přístupu akademiků k časopisům, tak jak to bylo dosud (tj. čtení článků), mají nyní nově autoři z institucí v konsorciu (pozn.: v naprosté většině případů se týká pouze korespondujících autorů) možnost bezplatného OA publikování v těchto časopisech (často ve formě přidělených tzv. „tokenů“, které lze použít pro aktivaci článku v režimu OA). A v dlouhodobém horizontu dojde k postupné transformaci jednotlivých časopisů na čisté OA časopisy.

Nutno podotknout, že uzavření takové smlouvy je bez konsorciálního přístupu prakticky nemožné – z podstaty věci je publikační činnost jednotlivých institucí nepředvídatelná a čím menší je instituce/celek, tím větší fluktuace lze očekávat. Naopak, čím větší agregace, tím je publikační činnost předvídatelnější, proto např. Národní licenční centrum CzechELib, které je součástí Národní technické knihovny (<https://www.czechelib.cz/cs/21-o-czechelib/>), může dosáhnout nastavení smluv, které je výhodné pro všechny účastníky konsorcia – financování je stabilizované a předvídatelné a výkyvy publikační činnosti na úrovni jednotlivých institucí je možné vzájemně kompenzovat, neboť na úrovni konsorcia se počet publikací obvykle v letech nijak radikálně nemění. Díky této silné pozici jsou vydavatelé ochotni přistoupit na podmínky, které by na úrovni jednotlivých institucí byly zcela nemyslitelné.

A nyní se pokusíme podívat ve větším detailu na hlavní uzavřené transformační smlouvy, které se týkají chemických časopisů. Všechny tyto smlouvy jsou uzavřeny s platností od 1. 1. 2023, máme tak možnost vyzkoušet naráz pilotní provoz u transformačních smluv s následujícími vydavateli:

**American Chemical Society (ACS)** – kdybychom měli stručně shrnout postoj ACS k OA jedním slovem, asi nejlépe by ho vystihovalo „pragmatický“. ACS tradičně patřila k nejtvrdším vydavatelům, původně s velmi odmítavým

vým postojem ke všem formám OA, ale během času zjistila, že část významných autorů publikovat v OA chce (nebo potřebuje – např. kvůli požadavkům prestižních poskytovatelů podpory) a že to pro ACS nemusí znamenat finanční pohromu (pravděpodobně spíše naopak). ACS se tak hrdě hlásí k transformačním smlouvám, které nyní zahrnují přes 30 zemí/regionů a 1000 institucí (<https://acsopencience.org/institutions/read-and-publish/#agreements>), vč. „celokalifornské“ smlouvy, která zahrnuje University of California a konsorcium soukromých vysokých škol ze státu California. Portfolio ACS asi není třeba vůbec představovat, stačí jmenovat vlajkový Journal of the American Chemical Society, ve kterém nyní mohou autoři z našeho konsorcia automaticky publikovat v režimu OA bez dalších poplatků. Zde musíme zdůraznit, že se podařilo dosáhnout možnosti neomezeného publikování v režimu OA, což není nijak běžné (u ACS), a to díky ÚOCHB AV ČR, který se zapojil do vyjednávání s vydavatelem a zároveň přispěl významnou částkou, takže žádná instituce z konsorcia nemusí v letech 2023–2025 řešit omezený přiděl „tokenů“ pro otevření článků v režimu OA u tohoto velmi prestižního vydavatele.

**Royal Society of Chemistry (RSC)** – kdo sleduje dění okolo OA trochu podrobněji, možná zaznamenal, že RSC na konci října 2022 slavnostně oznámila, že do pěti let budou všechny její časopisecké tituly plně OA (<https://www.rsc.org/news-events/articles/2022/oct/rsc-oa-commitment/>). V téže době se podařilo NTK/CzechELib vyjednat prakticky finančně neutrální transformační smlouvu (tj. bez znatelného navýšení celkové platby), a to navíc s neomezeným OA publikováním ve všech titulech RSC (ať už hybridních, či čistě OA). Namátkou můžeme jmenovat např. Physical Chemistry Chemical Physics (PCCP), Dalton Transactions nebo ChemComm.

**Wiley** – komerční vydavatel, který se po určitém váhání jednoznačně rozhodl jít aktivně cestou OA, změnit své fungování radikálním způsobem a nepět urputně na starém modelu předplatného. Vydavatel je pro chemickou komunitu významný tím, že dlouhodobě vydává časopisy zejm. evropských chemických společností – například Angewandte Chemie (časopis společnosti Gesellschaft Deutscher Chemiker), Chemistry – A European Journal, ChemPlusChem, ChemSusChem, ChemElectroChem (časopisy sdružení Chemistry Europe), ale např. i americký AIChE Journal. Zde jsou sice jistá omezení týkající se počtu „tokenů“, ale vzhledem k nastavení smlouvy přepokládáme, že by se na všechny autory mělo dostat.

**Springer Nature** – dnes, po sloučení Springer a Nature Research Group, vydavatel soupeřící s Elsevierem o titul „největší“. Pro chemiky možná ne tak v centru zájmu, ale jsou zde tituly pocházející ze středoevropského prostředí, jako jsou Chemical Papers (spojený se Slovenskou akademií věd), nebo Monatshefte für Chemie – Chemical Monthly (svázaný s rakouskou společností chemiků).

*I v těchto titulech mohou naši autoři publikovat nyní v režimu OA bez dalších nákladů, i když je pravděpodobné, že počet „tokenů“ konsorciu nevystačí pro celý rok – to byl jeden z kompromisů, který byl nakonec při jednání učiněn, v zájmu udržení ceny v přijatelných mantinelech.*

*A tak debata již není o tom, zda OA ano, či ne, nýbrž jaký bude dopad na další činnost větších i menších učených společností. U těch větších se silnou pozicí bude zajímat sledovat, zda učené společnosti odolají pokušení, které může být příliš silné pro komerční vydavatele – „když vydáme o 10 % článků více ročně, tak díky tomu můžeme vybrat o 10 % více peněz a ještě nám je všichni rádi dají...“. Učené společnosti by se (snad) měly dívat na vše z trochu jiné časové perspektivy a střežit své portfolio časopisů jako oko v hlavě a vyhnout se pokušení vytěžit z krátkodobého (což znamená několik let) prudkého nárůstu počtu publikací (jak jsme viděli u některých komerčních vydavatelů, může se jednat i o exponenciální růst),*

*který by znamenal doslova vytěžení (a posléze vyčerpání) hodnoty portfolia, s následnou devalvaci a devastací těchto časopisů v dlouhodobějším měřítku (nyní mluvíme o dekádách).*

*U menších učených společností ovšem může jít i o přežití, neboť se může stát, že přechod na nový obchodní model zahrnující Open Access může být příliš riskantní z hlediska finančního a komplikovaný z hlediska technického.*

*Chemické listy byly dlouhá léta v režimu „Free to read“, nebo též „Free access“ či „Gratis access“, tj. elektronická verze byla bezplatně dostupná pro čtení komukoli, ale zůstávala tradiční ochrana pomocí „copyrightu“. Takže na závěr si dovolueme položit provokativní otázku – není čas po vzoru ostatních společností lehce poupravit model a postavit časopis bok po boku jeho sesterským titulům jiných chemických společností?*

Jiří Jiráť a Eva Dibuszová

### Umělá inteligence píše pro Chemické listy

„Artificial Intelligence“ (AI) je obor informatiky řešící komplexní úlohy bez lidského vstupu. Má schopnost strojového učení a sebezdokonalování. Je známo, že např. specializovaná AI AlphaZero ve hře šachy nebo GO již před 5 lety předčila nejlepší lidské soupeře. V listopadu 2022 AI překročila další hranici, když se na webu objevila aplikace ChatGPT (od americké společnosti OpenAI)<sup>1</sup>, která umožňuje s AI komunikovat i v češtině, prakticky o čemkoliv. Tím se AI stala věcí veřejnou a dostupnou miliardám lidí. Údajně je ChatGPT od svého vzniku blokován v totalitních zemích, Číně, Iránu, Severní Koreji a Rusku. Se zpožděním pouhých několika měsíců, od 31. 3. 2023, se pro zákaz používání tohoto chatovacího robota na svém území rozhodla také Itálie, jako první západní země. To proto, že dominují především negativa spojená s používáním AI: předpokládané rušení milionů pracovních pozic, které zastávají lidé, strach z dezinformací, nekontrolovaný únik dat, algoritmů, osobních údajů, fotomontáže atd. Je nepochybné, že AI má a bude mít i pozitiva a obrovskou dynamiku sebezdokonalování. Kam se bude její rozvoj v budoucnu ubírat a jestli bude regulován, aby nám AI „nepřerostla přes hlavu“, je těžké předikovat.

Podívejme se však na pozitiva/negativa AI z pohledu Chemických listů. Je schopna např. napsat smysluplný úvodník a nikoliv pouze kompilovat milióny existujících textů? Jak si s tím AI poradila, posuďte prosím sami. Podotýkám pouze, že v češtině je AI ženského rodu.

*Častými tématy v úvodních chemických časopisů jsou například nové technologie v chemickém průmyslu, vliv chemických látek na životní prostředí a zdraví, etické otázky týkající se chemických aplikací a další. Na základě toho, co jsem popsala výše, mohla by být zajímavá otázka týkající se vlivu chemických látek na lidské zdraví a sou-*

*časných trendů v této oblasti. Konkrétně by mohl být zvážen vliv endokrinních disruptorů (EDC), což jsou látky, které ovlivňují hormonální rovnováhu v těle a mohou mít negativní dopad na zdraví. Tyto látky se mohou vázat na hormonální receptory a interferovat s hormonálními signály, čímž mohou způsobovat např. neplodnost, vývojové vady, nádory a poruchy imunitního systému. Jedním z mechanismů je, že EDC mohou napodobovat přirozené hormony a navázat se na hormonální receptory, čímž blokují nebo zvyšují jejich aktivitu a ovlivňují hormonální rovnováhu. Například, některé látky mohou napodobovat estrogény a aktivovat estrogenové receptory, což může vést k nežádoucím účinkům, jako jsou poruchy menstruačního cyklu, snížená plodnost nebo rakovina prsu. Dalším mechanismem může být to, že EDC mohou ovlivnit produkci hormonů v endokrinních orgánech, jako jsou nadledviny, štítná žláza nebo vaječníky. Některé látky mohou ovlivňovat tvorbu štítných hormonů, což může vést k problémům s růstem a vývojem. Tyto látky mohou být zvláště nebezpečné pro těhotné ženy, novorozence a děti v období růstu. Konkrétními příklady EDC jsou bisfenol A (BPA), ftaláty, polychlorované bifenylly (PCB), organochlorované pesticidy (DDT), perfluorované sloučeniny (PFC), bromované a chlorované zpomalovače hoření a mnoho dalších. Regulace EDC je složitá, neboť jejich vliv na zdraví může být velmi dlouhodobý a může být obtížné identifikovat konkrétní zdroje vystavení. Nicméně existují některé kroky, které mohou být podniknuty pro minimalizaci vystavení EDC:*

- *Jezte čerstvé potraviny a snižte konzumaci zpracovaných potravin: Endokrinní disruptory mohou být přítomny v potravinách, které byly vystaveny chemikáliím.*
- *Snižení konzumace zpracovaných potravin a nákup čerstvých potravin může snížit vaši expozici těmto látkám.*

- *Používejte ekologické čisticí prostředky: Některé chemikálie obsažené v běžných čisticích prostředcích mohou být EDC. Volba ekologických čisticích prostředků může minimalizovat vaši expozici těmto látkám.*
- *Omezte používání plastů: Mnoho plastů obsahuje endokrinní disruptory, jako jsou ftaláty a bisfenol A (BPA). Snažte se minimalizovat používání plastových obalů a používat alternativy, jako jsou skleněné nebo nerezové nádoby.*
- *Vyvarujte se kosmetických výrobků s nebezpečnými chemikáliemi: Mnoho kosmetických výrobků obsahuje endokrinní disruptory, jako jsou parabeny a ftaláty. Zkontrolujte složení vašich kosmetických výrobků a vybírejte ty bez nebezpečných chemikálií.*
- *Zvažte filtrování vody: Některé endokrinní disruptory mohou být přítomny v pitné vodě. Použití filtračního systému může minimalizovat vaši expozici těmto látkám.*
- *Větrejte pravidelně místnosti, kde se nacházejí koberce, nábytek, záclony a podobně. Tyto předměty mohou obsahovat látky, které mohou být endokrinními disruptory.*

*Přirozená lidská odolnost vůči EDC se liší individuálně. Někteří lidé jsou více odolní než jiní. Avšak vysoká expozice těchto látek může vést ke zdravotním problémům. Pokud máte podezření, že byste mohl být vystaven EDC, můžete se poradit s lékařem a nechat si provést krevní test na hormony.*

*Zdravý životní styl a opatrnost při výběru potravin, kosmetiky a dalších produktů mohou pomoci minimalizovat expozici EDC a ochránit zdraví. Přehnaná opatrnost však může být také problematická a vést k nadměrnému stresu. Je důležité najít zdravou rovnováhu a snažit se*

*minimalizovat expozici disruptorům, aniž by to vedlo k přehnanému strachu a stresu.*

*Spotřebitelé však mohou mít nedostatečné informace o chemických produktech, které používají, což způsobuje nedostatek zájmu o to, jak byly vytvořeny. Pokud si lidé neuvědomují, že jsou chemické produkty tvořeny složitými chemickými sloučeninami a procesy, mohou být méně motivováni se o tom dozvědět více. Některé společnosti se snaží minimalizovat nebo skrýt chemickou povahu svých produktů marketingovými taktikami, aby nevyvolávaly obavy u spotřebitelů. To může vést k přesvědčení, že produkty jsou bezpečné a bez rizika, což odradí lidi od toho, aby se o chemii více dozvěděli.*

*Chemie má někdy negativní pověst, zejména kvůli negativnímu vlivu některých chemikálií na zdraví a životní prostředí. Tato negativní pověst může vést k nedůvěře v chemické produkty a nedostatečnému zájmu o to, jak jsou vytvořeny. Celkově lze tedy říci, že lidé mohou být méně motivováni se dozvědět více o chemii z různých důvodů, včetně nedostatku informací, negativní pověsti, nedostatečného povědomí nebo marketingových taktik. Zlepšení komunikace a vzdělávání o chemii může pomoci zvýšit zájem a povědomí o tom, jak jsou chemické produkty vytvořeny a jak ovlivňují životní prostředí a lidské zdraví.*

#### LITERATURA

1. <https://chat.openai.com/>, staženo 17. 3. 2023.

*S AI si prostřednictvím ChatGPT povídal  
Bohumil Kratochvíl*

## O HALUCINOGENNÍM OŘÍŠKU V NAŠÍ KUCHYNI

MICHAL JURÁŠEK a PAVEL DRAŠAR

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

Došlo 1.2.23, přijato 7.3.23.

Článek popisuje muškátový oříšek z muškátovníku (*Myristica*), který se používá jako koření a tradiční léčivo, ale je také zneužíván jako nelegální droga. Popisuje hlavní chemické složky, konkrétně myristicin.

Klíčová slova: muškátový oříšek, muškátovník, *Myristica*, koření, lék, zneužitá droga, myristicin

Muškatovník vonný, též pravý (někdy též mácis) *Myristica fragrans* Houtt. (Myristicaceae, obr. 1) je stále zelený strom endemický pro Indonéskou provincii Maluku (dříve známou jako Spice Islands), byl dlouho důležitý nejen jako koření, ale i jako komodita, která měla dříve geopolitický význam. Jeho roční produkce je 12 tisíc tun. Mezi domorodci byly shromážděny informace o léčivých aspektech od prodejců bylinných léčivých přípravků, léčitelů a porodních asistentek. Bylo zjištěno, že *M. fragrans* se stále používá, zejména jeho „oříšek“, mimo kulinářské i pro léčebné účely, najmě na zmírnění průjmu či nadýmání, vředy, nespavost, k domácí léčbě astmatu, pankreatitidy, nefritidy. Ještě koncem minulého století se udávalo, že jeho údajné halucinogenní a psychoaktivní vlastnosti, jiné než slabé sedativní, nejsou literaturou podepřeny<sup>2</sup>. Nicméně je známo, že použití muškátového oříšku bylo běžné v „hippie kultuře“ šedesátých a sedmdesátých let, u drogově závislých, vězňů, adolescentů a vysokoškolských studentů, kde byl považován za dostupnou alternativu při



Obr. 1. Muškátovník vonný *Myristica fragrans* Houtt. (Myristicaceae)<sup>1</sup>

omezené dostupnosti alkoholu a rekreačních drog<sup>3</sup>, často v kombinaci s jinými medikamenty (konopí, syntetické kanabinoidy, amfetaminy, benzodiazepiny, difenhydramin, duloxetin, klonazepam, sirup proti kašli, acetaminofen, antihistaminka), a zvláště pak s alkoholem, či prostě jako laciný fet<sup>4</sup>, psychomimetikum, přírodní halucinogen, narkotikum a spirituální agens<sup>5</sup>. Že se jedná o fet, potvrzuje i to, že se o látku zajímal i známý drogový nestor Alexander Shulgin<sup>6</sup>. Prvá údajná intoxikace muškátovým oříškem (*Moscata Nux*) byla však popsána již vlámským lékařem Matthaeusem Lobeliem<sup>7,8</sup> v roce 1576.

Muškatový oříšek je vysušené semeno, endosperm plodu stromu muškátovníku pravého, je využíván především jako dochucovací koření podporující chuť k jídlu a zajišťující klidné trávení. Podobně jako oříšek se používá v kuchyni i muškátový květ. Je to sušený míšek ze semene muškátovníku, hmota, která se v plodu nalézá na povrchu oříšku, pod osemení „slupkou“. V kuchyni se používá i osemení (vnější obal „oříšku“).

Muškatový oříšek je účinné spasmolytikum, tišíci zejména břišní bolesti a křeče, ve středních dávkách vyvolává menstruaci, může rovněž narušit vývoj plodu. Lidových a tradičních použití muškátového oříšku je mnoho a liší se napříč různými kulturami, patří mezi ně gastrointestinální poruchy, balzamování, léčba moru, astmatu, kašle, cholery, úzkosti, hemoroidů, psychóz, melancholie a revmatologických onemocnění, použití jako afrodiziakum, látka vyvolávající potrat, narkotikum, látka proti nadýmání. Našel i svoje místo v alternativní medicíně, například v podání a praxi Andrewa T. Weila<sup>9</sup>.

Soudobě lze muškátovému oříšku přisoudit aktivity antimikrobiální, antioxidační, analgetické, antidepressivní, anxyolytické, protizánětlivé, antireumatické a vasodilatační až afrodisiakální. Není vyloučeno jeho použití při bolestech zubů, svalů a kloubů. Je studována anti-leukemická aktivita extraktů. Klinické testy s kontrolovanými dávkami prokázaly zlepšení stavu myšlení, spánku a snížení únavy a snížení neuropatických bolestí<sup>5</sup>. Merck Index uvádí, že zmírňuje plynatost, koliku trávicího traktu a žaludeční nevolnost (karminativum)<sup>10</sup>.

Mezi negativní efekty lze zařadit působení na CNS, vyvolání depresí, sebevražedných myšlenek, ale i tachykardii, hypotenzi, nevolnost, zvracení, žízeň, suchost v ústech, pocení, poruchy vidění, snížení teploty a poruchy ve vnímání částí těla. Je prokázáno, že nadměrná konzumace muškátového oříšku přesahující „toxickou úroveň“ může přinést negativní účinky na zdraví, protože působí neurotoxicky<sup>11</sup>.

Ve vyšších dávkách se již chová jako delirogenní narkotikum, ačkoliv je jako droga zneužíván zřídka, mnohdy z pouhé zvědavosti. V nižších dávkách se droga projevuje jako účinné narkotikum, narušující kvalitativní úroveň vědomí (tzv. delirant), neboť působí jako anticholinergikum. Intoxikace je navíc dlouhodobá a vysilující, zbytkový diskomfort a bolesti hlavy mohou přetrvávat i několik dní. Projevy intoxikace mají tři fáze: Fáze I (2–5 hodin po požití účinné dávky): možnost lehké agrese, nevolnost až zvracení, zarudnutí, zteplání pokožky, rozostřené vidění, ataxie, zastřená řeč. Fáze II (9–12 hodin): euforie či dysforie, otupělost, netečnost, narušení krátkodobé paměti, zakalené vědomí, dezorientace, iluze, snové vidiny, strnulost, celková slabost, narušené vnímání času (extrémně pomalu), deformace obrazu, času, prostoru, znovuprožívání minulosti (záblesky vzpomínek z minulosti, na které člověk málem zapomněl), při zavření očí kaleidoskopické (někdy barevné) obrazce a jiné vizuality, prodloužení reakční doby. Fáze III (12–24 hodin): vyčerpání a skleslost, částečná amnézie, dlouhý spánek, úporné bolesti hlavy i kloubů, rozlámanost, schvácenost<sup>12</sup>. Doznívání účinku může trvat mnohem déle.

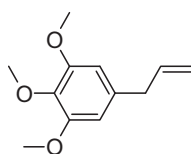
Nicméně, jak píše Andrew T. Weil<sup>9</sup>: „Osoby, které používají narkotika, jsou často ochotny trpět extrémním diskomfortem pro pár příjemných okamžiků, vyvolaných drogami“, neboť Aldousem Huxleym vyslovený požadavek<sup>13</sup> na ideální drogu zní: „Je zapotřebí nová droga, která uvolní a utěší naše trpící druhy, aniž by v dlouhodobém horizontu způsobila větší škodu, než jaké působí dobro v horizontu krátkém. Taková droga musí být silná v malých dávkách a musí být syntetizovatelná..... Musí být

méně toxická než opium nebo kokain, méně schopná působit nežádoucí sociální důsledky než alkohol nebo barbituráty, méně škodlivá vůči srdci a plicím než dehty a nikotin cigaret. A na lepší straně by měla působit změny ve vědomí zajímavější a přirozeněji cennější než pouhé zklidnění, uvolnění, nebo sny a bludy, či pocit všemocnosti“, který zatím nikdy nebyl splněn, neboť zatímco se očekávaný rauš dostává za několik hodin po požití 5–15 g umletých oříšků (tj. 1–3 oříšky), k toxickému předávkování dochází již po požití 5 g (cit.<sup>14</sup>).

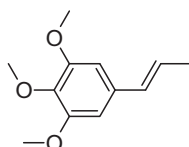
Popsáno bylo mnoho klinických případů otrav. Jedním je případ 18leté studentky, která si stěžovala na palpitaci (zvýšené uvědomování si srdečního rytmu, často spojené s pocitem neobvykle rychlého, pomalého či nepravidelného rytmu), ospalost, nevolnost, závratě, žízeň a sucho v ústech. Byla velmi úzkostná, neklidná a rozrušená a popsala, že „ve stavu transu“ se cítila „jako čertík v krabici, který se chce dostat ven“, ale neměla halucinace. Nestěžovala si na močové nebo břišní problémy ani na záchvaty nebo migrény. Popřela jakékoli sebevražedné myšlenky<sup>3</sup>. Jako druhý z mnoha popsáných případů uvedme případ 25letého bělocha, který po otravě pociťoval takovou žízeň (*polydipsia*), že pil 5 litrů vody (eventuálně i vlastní moči) za hodinu, u kterého po opakované intoxikaci lékaři diagnostikovali chronickou psychózu (chronic nutmeg psychosis) s velmi špatnou prognózou<sup>14</sup>. Účinky se liší u různých lidí. Různých případů je popsáno v seriózní i šedé literatuře mnoho.

Mezi hlavními obsahovými látkami muškátovníku a jeho plodů jsou uváděny elemicin, isoelemicin, safrol, myristicin, eugenol, 4-terpineol, sabinen,  $\alpha$ - a  $\beta$ -pinen, a mnoho dalších terpenů, fenolů, lignanů a řada dalších látek<sup>5,15</sup>.

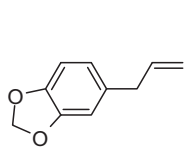
Když se však podíváme na první čtyři látky a srovnáme jejich strukturální vzorce s meskalinem MDMA (extáze, 3,4-methylenedioxyamfetamin) a MMDA (3-methoxy-4,5-methylenedioxyamfetamin), tak určitou podobnost najdeme.



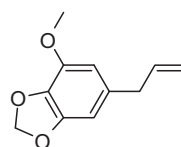
elemicin



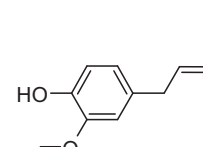
isoelemicin



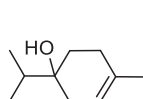
safrol



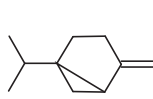
myristicin



eugenol

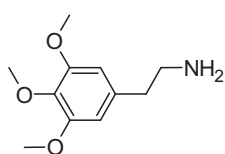


4-terpineol

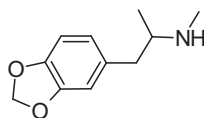


sabinen

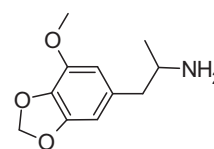
 $\alpha$ -pinen $\beta$ -pinen



meskalin



MDMA



MMDA

Literatura považuje myristicin (4-methoxy-6-(2-propenyl)-1,3-benzodioxol), jehož je v oleji muškátového oříšku z daných látek nejvíce (až 12 %), za hlavní biologicky aktivní složku v oříšku<sup>11,16</sup>. Tých zdroj má za to, že se myristicin v organismu transformuje na Shulginem<sup>17</sup> popsáný MMDA, což ovšem pozdější zdroje nepotvrzují<sup>18</sup>. Rahman<sup>11</sup> dále píše, že myristicin je slabým inhibítoem monoaminoxidasy<sup>19</sup>, zatímco jiné složky muškátovníku (linalool, safrol, isoeugenol a eugenol) jsou (vzdáleně) strukturně podobné agonistu serotoninu, které by mohly být odpovědné za některé kardiovaskulární symptomy<sup>3</sup>. Je také možné, že myristicin pouze zdůrazňuje existující mentální poruchu<sup>14</sup>. Také působí jako anticholinergikum, protialergická, protizánětlivá, cytoprotektivní látka a ovlivňuje funkci celé řady enzymů<sup>20</sup>, dále může být prospěšný při ulcerativní kolitidě<sup>21</sup>. Kromě muškátovníku je myristicin obsažen i v tkáních mrkve, kopru, bazalky, skořice (skořicovníku) a petržele<sup>22</sup>, citrusů<sup>23</sup> a dalších rostlin, je to přirozeně se vyskytující insekticid a akaricid.

Výše uvedené informace společně ukazují na v současné době stávající a závažné mezery v oblasti potravinářské chemie a mohly by pomoci ke zdůraznění potřeby dalšího výzkumu nepříznivých zdravotních účinků potenciálně spojených se spotřebou potravin obsahujících alkenylbenzeny, alkylfenoly a příbuzné látky.

Přinášíme tento článek jako další příspěvek do série učebních textů popisujících různé zajímavé aspekty chemie přírodních látek<sup>24–26</sup> i proto, že chceme takto reagovat na množství smyšlenek, polopravd a nesmyslů, které jsou kolem přírodních sloučenin dnes šířeny. Je nábíledni, že zkoumání přírodních látek, jakožto látek z obnovitelných zdrojů, je jednou z cest, jak laciným a efektivním způsobem přispět ku všeobecnému prospěchu<sup>27,28</sup>.

## LITERATURA

- Köhler F. E.: *Köhler's Medizinal-Pflanzen in naturgetreuen Abbildungen mit kurz erläuterndem Texte*, Gera-Untermhaus, 1887.
- Gils V. L., Cox P. A.: *J. Ethnopharmacol.* 42, 117 (1994).
- Demetriades A. K., Wallman P. D., McGuinness A., Gavalas M. C.: *Emerg. Med. J.* 22, 223 (2005).
- Ehrenpreis J. E., DesLauriers C., Lank P., Armstrong P. K., Leikin J. B.: *J. Med. Toxicol.* 10, 148 (2014).
- Barman R., Bora P. K., Saikia J., Kemprai P., Saikia S. P., Haldar S., Banik D.: *Phytother. Res.* 35, 4632 (2021).
- Shulgin A. T.: *Nature* 197, 379 (1963).
- Cushny A. R.: *Proc. R. Soc. Med. 1* (Ther. Pharmacol. Sect.), 39 (1908).
- de L'Obel M., v knize: *Plantarum, seu, Stirpium historia*, str. 424. Ex officina Christophori Plantini, Antverpiae 1576.
- Weil A. T.: *Econ. Bot.* 19, 194 (1965).
- The Merck Index, Merck & Co. Whitehouse Station New Jersey 2001.
- Rahman N. A. A., Fazilah A., Effarizah M. E.: *Int. J. Adv. Sci. Eng. Inf. Technol.* 5, 212 (2015).
- [https://fr.wikipedia.org/wiki/Noix\\_de\\_muscade?oldid=176030038](https://fr.wikipedia.org/wiki/Noix_de_muscade?oldid=176030038), staženo 4. 1. 2023.
- Huxley A.: *The doors of perception*, Chatto & Windus, London 1954.
- Brenner N., Frank O. S., Knight E.: *J. R. Soc. Med.* 86, 179 (1993).
- Ashokkumar K., Simal-Gandara J., Murugan M., Dhanya M. K., Pandian A.: *Phytother. Res.* 36, 2839 (2022).
- Shulgin A. T.: *Nature* 210, 380 (1966).
- Shulgin A., Shulgin A.: *PiHKAL: A Chemical Love Story*, Transform Press, Berkeley 1991.
- Götz M. E., Sachse B., Schäfer B., Eisenreich A.: *Foods* 11, 1988 (2022).
- Truitt E. B., Duritz G., Ebersberger E. M.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 112, 647 (1963).
- CAS Life Sciences: Structure Activity Relationships, Myristicine.
- Huda M. I. A. E., Mohamed M. F. A.: *Life Sci., Part B* 311, 121187 (2022).
- Zhao Q., Liu C., Shen X., Xiao L., Wang H., Liu P., Wang L., Xu H.: *Mol. Med. Rep.* 15, 2280 (2017).
- Duan B., Tan X., Long J., Ouyang Q., Zhang Y., Tao N.: *Pestic. Biochem. Physiol.* 189, 105312 (2023).
- Jurášek M., Stárka L., Drašar P.: *Chem. Listy* 116, 115 (2022).
- Bejček J., Spiwok W., Kmoníčková E., Ruml T., Rimpelová S.: *Chem. Listy* 115, 4 (2021).
- Jurášek M., Opletal L., Kmoníčková E., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 363 (2021).
- Jurášek M., Opletal L., Harmatha J., Sláma K., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 595 (2021).
- Rádl S.: *Chem. Listy* 115, 246 (2021).



**M. Jurášek and P. Drašar** (*Department of Chemistry of Natural Substances, University of Chemistry and Technology, Prague, Czech Republic*): **About Hallucinogenic Nut in our Kitchen**

The article describes the nutmeg of a nutmeg tree (*Myristica*), which is used as a spice and traditional medicine but is also abused as an illicit drug. The main chemical components, namely myristicin, are described.

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

Keywords: nutmeg, nutmeg tree, *Myristica*, spice, medicine, illicit drug, myristicin

## NÁMRAZA JAKO RELEVANTNÍ SOUČÁST ATMOSFÉRICKÉ DEPOZICE V HORSKÝCH OBLASTECH

Iva HUNOVÁ<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Český hydrometeorologický ústav, Úsek kvality ovzduší, Na Šabatce 17, 143 06 Praha 4 – Komořany,

<sup>b</sup> Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Ústav pro životní prostředí, Benátská 2, 120 00 Praha 2, Česká republika  
iva.hunova@chmi.cz

Došlo 21.2.23, přijato 7.3.23.

Príspevek predstavuje námrazu jako zajímavý hydrometeor, který může významně ovlivnit člověka a jeho životní prostředí. Shrnuje současné poznatky o vzniku námrazy a faktorech, které ovlivňují její tvorbu, a ukazuje důsledky a dopady, ke kterým může námraza vést. Kromě fyzikálních vlastností se článek věnuje i chemickému složení námrazy a poukazuje na to, do jaké míry se může námraza podílet na atmosférické depozici látek a jak významnou roli v tomto ohledu hraje zejména lokálně v horském prostředí.

Klíčová slova: námraza, atmosféra, atmosférická depozice, znečištění ovzduší

### Obsah

1. Úvod
2. Co to je námraza a jak vzniká
3. Katastrofy způsobené námrazou
4. Námraza jako významná součást atmosférické depozice
5. Poznatky o chemickém složení námrazy v České republice
6. Závěr

### 1. Úvod

Cílem této studie – rešerše dostupné odborné literatury – je přiblížit čtenářům námrazu jako zajímavý hydrometeor a kromě stručného představení faktorů, které ovlivňují její tvorbu, a zmínění jejích možných závažných důsledků se zaměřit zejména na přehledné představení současných poznatků o jejím chemickém složení a příspěvku k atmosférické depozici.

### 2. Co to je námraza a jak vzniká

Námrazou rozumíme bílou, mléčně zakalenou zrnitou usazeninu tvořenou ledovými krystaly vznikající z mlhy nebo dešťových kapiček při teplotách pod bodem mrazu, když přechlazené vodní kapky přijdou do kontaktu s povrchem, jehož teplota je též buď pod bodem mrazu, nebo lehce nad ním<sup>1,2</sup>. Přechlazené vodní kapky jsou takové, které si udržují své kapalně skupenství navzdory teplotám pod bodem mrazu<sup>2</sup>. Námraza vzniká nejčastěji při teplotách vzduchu  $-2$  až  $-10$  °C (cit.<sup>2</sup>). Intenzita námrazy

závisí především na okolní teplotě vzduchu a rychlosti větru a souvisí s výskytem určitých synoptických situací<sup>3</sup>. Tvorba a usazování námrazy nezávisí na druhu podkladového materiálu, ale závisí na jeho tloušťce<sup>4</sup>. Vznik námrazy je významně ovlivňován typem krajiny, koreluje mnohem více s relativním převýšením dané lokality vůči okolnímu terénu než přímo s nadmořskou výškou<sup>5</sup> a silně závisí na drsnosti povrchu<sup>3</sup>.

Námraza se obvykle tvoří na horách z mlhy orografického původu<sup>3</sup>. Velmi často se intenzivní námraza vyskytuje v Sudetských pohořích<sup>6</sup>, tedy v Krkonoších, Jizerských horách, Orlických horách a Jeseníkách. Naproti tomu výše položené evropské horské meteorologické stanice, jako jsou např. Jungfraujoch (3450 m n. m.), Sonnblick (3106 m n. m.), Zugspitze (2962 m n. m.), Lomnický štít (2633 m n. m) nebo Musala (2925 m n. m.), jsou už tak vysoko, že často vystupují nad vrstvu nízko ležících oblaků. To platí především v zimním období, kdy se snižuje kondenzační hladina v důsledku sezonního poklesu slunečního záření a převládající stabilní stratifikace s oblaky typu stratus a stratocumulus ležícími pod 2000 m n. m (cit.<sup>7</sup>).

V přírodě námraza vytváří fascinující obrazce na větvích stromů a keřů, na stéblech trav, na plotech. Extrémní přírodní podívanou pak představují tzv. ledové hříby (v angl. označované jako „rime mushrooms“) známé především horolezcům z jihoamerické Patagonie (jihopatagonské Andy). Tyto ohromné, perzistentní, okrouhlé nebo cibulovité srostlice námrazy vznikají na návětrných svazích horských vrcholů a hřebců obklopených oblaky za silného větru. Ledové hříby jsou nejčastější a nejlépe vyvinuté na izolovaných vrcholcích a exponovaných hřebenech v pobřežních oblastech s častým výskytem bouří<sup>8,9</sup>.

V našich klimatických podmínkách je námraza nebezpečným atmosférickým jevem představujícím významný problém pro dopravu silniční i leteckou<sup>10–12</sup>, způsobující svou vahou kalamity v rozvodných energetických sítích<sup>13,14</sup> či lámání stromů. Energetika má u nás k dispozici výsledky pozorování výskytu námrazy od třicátých let dvacátého století a jde o nejdelší záznamy v celosvětovém měřítku<sup>4,15–18</sup>. V České republice je námraza významným, často se opakujícím, lesy poškozujícím faktorem v částech Českomoravské vysočiny, Krušných hor, Jizerských hor, Orlických hor, Kralického Sněžníku, Českého lesa, Brd a Slavkovského lesa<sup>4</sup>.

Problémy ovšem může námraza působit nejen v důsledku svých fyzikálních vlastností, ale i v souvislosti se svým chemickým složením. Z ekologického a environmentálního hlediska je námraza důležitá vzhledem ke své vysoké mineralizaci, tedy vysokým koncentracím znečišťujících látek, které obsahuje<sup>19–26</sup>. Námraza tak může zvyšovat negativní dopady znečištění ovzduší na horské lesy v procesu její opakované tvorby, odtávání a opadávání, při němž se veškeré látky v námraze nakumulované dostávají do půdy nad kořenovým systémem a mohou postupně pronikat do spodních půdních horizontů<sup>27</sup>. Námraza je pokládána za jeden z faktorů, které se podílely na odumírání lesů v sedmdesátých letech dvacátého století v mnoha regionech Evropy i Severní Ameriky<sup>28,29</sup>.

Chemické složení námrazy stejně tak jako mlhy není příliš studováno, a to z jednoduchého důvodu, kterým jsou komplikace neodmyslitelně spjaté s odběrem vzorků těchto hydrometeorů<sup>30</sup>. Výsledky existujících studií se porovnávají poněkud obtížně vzhledem k tomu, že používají jiné metody odběru, jinou délku expoziční doby, jsou z rozdílných geografických oblastí, z různých nadmořských výšek a z různých klimatických regionů. Nicméně všechny studie jsou zajedno v tom, že v námraze stejně tak jako v mlze jsou výrazně vyšší obsahy iontů než v odpovídajících vzorcích sněhu či deště<sup>21,24–26,31–35</sup>.

### 3. Katastrofy způsobené námrazou

Tvorba námrazy může vést k mnohým problémům a dokonce vyústit až ve vznik katastrofálních událostí. Tak např. v roce 1928 došlo v důsledku přetížení námrazou ke ztroskotání vzducholodi Italia při polární vědecké výpravě v Severním ledovém oceánu asi 120 km severovýchodně od norských Špicberků cestou od Severního pólu. Silná námraza vytvořená na kovové konstrukci vzducholodi zvýšila její hmotnost o několik tun, což způsobilo pokles a nakonec i pád vzducholodi na plovoucí kru. Výpravu vedl italský generál Umberto Nobile a účastnil se jí též (na základě přímluvy dvojnásobné držitelky Nobelovy ceny za fyziku a chemii, Marie Curie Skłodowské) český fyzik a spisovatel František Běhounek. Při záchraně trosečníků zahynul kromě jiných i významný norský polární badatel Roald Amundsen<sup>12,36,37</sup>. Běhounek během expedice proěřoval závislost intenzity kosmického záření na zeměpisné šířce, měřil hustotu iontů ve vzduchu, gradient elektrické-

ho pole v ovzduší, koncentraci radonu ve vzduchu a prováděl meteorologická měření a pozorování. Jeho měření týkající se intenzity kosmického záření a obsahu radonu v ovzduší jsou jediným dochovaným podstatným vědeckým výstupem této expedice<sup>38,39</sup>.

V letectví patří námraza k nejnebezpečnějším atmosférickým jevům a je s ní spojena řada leteckých nehod<sup>11,40,41</sup>. Tak např. dne 12. 12. 1985 došlo krátce po startu z kanadského města Gander na trase do Fort Campbell v USA k havárii letadla McDonnell Douglas DC-8. Asi půl kilometru od vzletové dráhy ztratil letoun vztlak a zřítíl se. Na palubě zahynulo všech 248 cestujících a 8 členů posádky. Jde o jednu z nejtragičtějších nehod v celé historii Kanady. Za pravděpodobnou příčinu vedoucí ke katastrofě byl označen snížený vztlak způsobený právě nahromaděním námrazy na křídlech a náběžných hranách vedoucí ke ztrátě rychlosti v malé výšce a následnému pádu letadla<sup>42</sup>.

Tíha námrazy může vést také k lámání stromů a poškození lesů. V ČR patří sníh a námraza spolu s větrem k nejvýznamnějším příčinám nahodilé těžby dřeva<sup>43,44</sup>. Poškození porostů začíná při sněhové či námrazové zátěži mezi 20–30 kg m<sup>-2</sup>, ale velikost zátěže potřebné ke vzniku poškození se podstatně liší podle typu (kvality) sněhu v korunách stromů a je podstatný rozdíl mezi zatížením sněhem (suchým, mokrým nebo přemrzlým) a námrazou<sup>45</sup>. Výsledné ohrožení porostů námrazou a velikost následných polomů závisí na několika faktorech<sup>46</sup>: nadmořské výšce a poloze, druhu dřeviny a typu porostu. Nejvíce jsou ohroženy podhorské a nižší horské polohy, více jsou poškozovány porosty na svazích a hřebenech (zachycení teplejších proudů mlh z údolí). Co se týká rozdílů v poškození dřevin podle druhů, uvádí se, že nejvíce je poškozována borovice lesní (*Pinus sylvestris*), u které může dojít k rozlámání korun a smrk ztepilý (*Picea abies*), u něhož mohou vznikat vrcholkové polomy. Z listnáčů pak je to olše (*Alnus* sp.), buk lesní (*Fagus sylvatica*) a v některých lokalitách i dub zimní (*Quercus petrae*). V důsledku tvorby námrazy může dojít až k násobnému zvýšení hmotnosti stromů, a to až 30násobnému u modřínu a dokonce až 50násobnému u buku<sup>17</sup>. Námraza způsobila v našich lesích kalamity opakovaně, např. v letech 1911, 1924, 1927, 1930, 1966, 1974. V zimě 1995/1996 námrazová kalamita vedla ke vzniku 2,4 mil. m<sup>3</sup> polomů<sup>4</sup>.

### 4. Námraza jako významná součást atmosférické depozice

Atmosférická depozice, tedy přenos/tok znečišťujících látek z atmosféry na zemský povrch je významným samočisticím procesem, díky kterému se ovzduší zbavuje látek, které by se zde jinak kumulovaly<sup>47–49</sup>. Na druhou stranu ovšem představuje atmosférická depozice vstup látek do ostatních složek prostředí a do ekosystémů, které může buď ve formě živin obohacovat, nebo jim naopak může prostřednictvím znečišťujících příměsí škodit. Často

u jedné látky přitom pozorujeme obojí efekt. Typickým případem je dusík<sup>50</sup>, který je jako biogenní prvek důležitou a nezbytnou živinou pro živé organismy, v množství nadbytečném však způsobuje acidifikaci, eutrofizaci a snížení druhové rozmanitosti, biodiversity<sup>51–53</sup>. Proces depozice probíhá buď suchou cestou, prostřednictvím plynů a aerosolu, prakticky neustále, nebo prostřednictvím atmosférických srážek a hydrometeorů, epizodicky.

Námraza a mlha bývají v češtině označovány termínem horizontální depozice (v angličtině *occult deposition*) jako protějšek depozice vertikální spojené s padajícími atmosférickými srážkami, deštěm a sněhem. Horizontální depozice je mnohem méně poznanou součástí depozice, na rozdíl od atmosférických srážek, jejichž vzorky jsou odbírány a chemické složení je zkoumáno v rámci provozu rutinních monitorovacích sítí<sup>54,55</sup> na různých úrovních od globální, jako např. BAPMON (Background Air Pollution Monitoring Network) provozované v rámci Světové meteorologické organizace WMO, přes úroveň regionální – evropskou monitorovací síť EMEP (Europe Monitoring and Evaluation Programme), monitorovací síť USA NADP/NTN (National Atmospheric Deposition Program/National Trends Network) či kanadskou monitorovací síť CAPMoN (Canadian Air and Precipitation Monitoring Network) až po jednotlivé národní monitorovací sítě<sup>56–61</sup>.

Ačkoliv je horizontální depozice pokládána za důležitou, a to zejména v horských oblastech, kde se vykytuje často, zůstává problémem ji kvantifikovat vzhledem ke značným nejistotám ohledně faktorů, které ovlivňují proces jejího vzniku<sup>62</sup>, a to jak její příspěvek hydrologický, tak chemický. Proto se při kvantifikaci celkové atmosférické depozice příspěvek depozice horizontální běžně neuvažuje a nezohledňuje vzhledem k nedostatku dat a informací. Přitom mlha a její chemické složení je studována mnohem častěji<sup>63,64</sup>, zatímco o námraze jsou informace pouze sporadické. Podobně jako mlha<sup>65</sup>, která ve srovnání s deštěm obsahuje vyšší koncentrace iontů, i námraza je poměrně vysoce mineralizovaná, ve srovnání s padajícími srážkami – deštěm a sněhem – jsou ionty v námraze přítomné ve významně vyšších koncentracích<sup>21,33,35,66,67</sup>. Práci, které se zabývají chemickým složením námrazy, není sice k dispozici mnoho, nicméně na tomto faktu panuje obecná shoda, ať už se provedené studie zabývají jakýmkoliv regionem světa a ať se jedná o oblasti vysoce znečištěné jako např. Čínu<sup>68</sup>, nebo oblasti relativně čisté, vzdálené od emisních zdrojů, např. odlehle horské regiony<sup>69</sup>.

Provedené studie indikují značnou variabilitu při srovnávání jednotlivých zkoumaných událostí, které jsou ovlivňovány mnoha rozličnými procesy, jako je transport vzdušných mas, mrznutí, vymývání plynů a aerosolu, komplikované heterogenní chemické reakce<sup>70</sup>. Zmíněné procesy mohou probíhat a působit simultánně a v obdobných časových dimenzích za vzniku složitých účinků, jejichž vliv je obtížné rozklíčovat<sup>71</sup>. Znečištění mrznoucích kapek souvisí s jejich velikostí, čím jsou kapičky menší, tím je koncentrace znečišťujících látek vyšší<sup>72</sup>.

## 5. Poznatky o chemickém složení námrazy z České republiky

Informaci o tom, jak to bylo s koncentracemi majoritních iontů v námraze u nás v minulosti, můžeme čerpat z práce Bridges a spol.<sup>35</sup>, kde jsou prezentovány výsledky odběrů námrazy a sněhu prováděných v devadesátých letech dvacátého století v Krušných horách v oblasti Flájské přehrady v nadmořské výšce 740 m n. m. V té době byla tato oblast ovlivněna značně vysokými průmyslovými emisemi vypouštěnými z velkých elektráren soustředěných v blízkém Podkrušnohoří. Studie byla konkrétně provedena v obdobích březen 1995 – březen 1996 a listopad 1996 – březen 1997, tedy ještě před zavedením nových striktních legislativních opatření v podobě přísných emisních limitů vyžadujících provedení zásadních technických opatření na zdrojích ke snížení emisí k roku 1998 (cit.<sup>73</sup>). V té době byla koncentrace sulfátů v námraze asi 2,5krát vyšší a ve sněhu téměř 5krát vyšší než ve vzorcích odebraných v Krušných horách později, v letech 2009–2011 (cit.<sup>74</sup>). Jinak tomu bylo ale u nitrátů, kde v současných vzorcích z období 2009–2011 byla koncentrace v námraze z Krušných hor překvapivě 1,6krát vyšší a ve sněhu stejná jako ve vzorcích z devadesátých let<sup>75</sup>.

V průběhu let 2000–2004 byly prováděny odběry mlhy a námrazy<sup>76</sup> v Českém středohoří na Milešovce, observatoři provozované Ústavem fyziky atmosféry AV ČR. Milešovka, vysoká 837 m n. m. je izolovaným vrcholem převyšujícím okolní terén o 350–500 m, což ji činí obzvláště vhodnou pro výskyt mlhy i námrazy. Kromě toho v blízkosti leží Podkrušnohorská hnědouhelná pánev s kumulací velkých hnědouhelných elektráren emitujících znečišťující látky přispívající ke vzniku kondenzačních jader účastnicích se tvorby námrazy. Celkem odebrané vzorky dokumentovaly 234 mlžných a 14 námrazových událostí, přičemž o významu námrazy svědčí její absolutní maximální hmotnost z 28. 12. 2002, která činila plných 52,3 kg m<sup>-2</sup>. Průměrná koncentrace majoritních iontů byla vyšší v mlze než v námraze, přičemž rozdíly v koncentracích (uvedených pro mlhu/námrazu v mg l<sup>-1</sup>) byly následující: SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 25,7/18,8, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 29,7/17,9 a NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 14,7/6,0 (cit.<sup>76</sup>). Srovnáme-li tyto hodnoty s koncentracemi naměřenými na stejné lokalitě dříve (mlha v roce 1999 a námraza na přelomu let 1999/2000) a publikovanými v práci Fišáka a Řezáčové<sup>77</sup> vidíme obdobné relace s vyššími koncentracemi v mlze než v námraze ovšem s vyššími absolutními hodnotami při dřívějších odběrech: SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 145,2/106,0, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 32,5/26,3 a NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 19,4/10,2 (cit.<sup>77</sup>). Nápadný rozdíl mezi odběry před a po roce 2000 je zřejmý zejména u SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, kde koncentrace v námraze i mlze poklesly řádově, což bylo způsobeno právě odsířením velkých zdrojů<sup>73</sup>.

V období 2009–2011 prováděla Česká geologická služba odběry námrazy na deseti vrcholových lokalitách okrajových českých pohoří – Krušných hor, Krkonoš, Jizerských hor, Orlických hor, Jeseníků, Beskyd, Šumavy, Novohradských hor a Českého lesa. Studovány v námraze byly koncentrace kadmia<sup>78</sup>, zinku<sup>79</sup>, olova<sup>80</sup>, mědi<sup>81</sup>, arse-

nu<sup>82</sup>, beryllia<sup>83</sup>, síry<sup>74</sup>, dusíku<sup>75,84</sup> a antimonu<sup>85</sup>. Koncentrace S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> byly na všech 10 odběrových lokalitách významně vyšší v námraze než ve sněhu, a to 5–10krát (cit. <sup>74</sup>) a koncentrace N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> byly v průměru 12krát vyšší v námraze než ve sněhu<sup>75</sup>. Výsledky majoritních iontů ukázaly, že depozice sulfátů i nitrátů prostřednictvím námrazy není na našich horách zanedbatelná ani v současnosti, ale je potřeba ji uvažovat zejména s ohledem na velmi lokální účinky. Zatímco zátěž sulfáty se ukázala významně vyšší na severních horách, což je v souladu s všeobecným narativem vyššího znečištění ovzduší na průmyslovém severu, zátěž nitrátů byla překvapivě vyšší naopak na jihu. V porovnání s odběry z devadesátých let dvacátého století pak byly koncentrace sulfátů v Krušných horách v námraze výrazně vyšší než v současnosti, zatímco u nitrátů byly koncentrace v průměru obdobné<sup>35,75</sup>.

## 6. Závěr

Na základě provedené rešerše je možné shrnout, že práci zabývající se námrazou, zaměřených na studium jejího chemického složení není celosvětově k dispozici mnoho, což nepochybně souvisí i s náročnými odběry jejích vzorků v terénu. Početnější jsou přitom práce zkoumající chemismus námrazy v minulosti (sedmdesátá až devadesátá léta dvacátého století) než práce současné. Z existujících prací vyplývá, že námraza bývá několikanásobně kontaminovanější než sníh či déšť, ale zpravidla poněkud méně koncentrovaná než mlha. Hydrologický podíl námrazy není jednoduché kvantifikovat, ale i když je řádově nižší než hydrologický podíl padajících srážek, vzhledem k vyšší koncentraci znečišťujících látek v námraze než ve srážkách padajících, představuje námraza významný příspěvek k atmosférické depozici, a to zejména v horském prostředí. To dokládají i výsledky měření provedených v českých horách, které ukazují, že i když se námraza v našich klimatických podmínkách vyskytuje pouze po dobu několika málo měsíců v roce (2–3 měsíce) a její hydrologický podíl je nevýznamný, může představovat vzhledem ke své vysoké mineralizaci a kumulaci v čase i prostoru nezanedbatelnou ekologickou a environmentální zátěž. Ta se pak může projevit lokálně zejména v horském prostředí, a to i ve středních nadmořských výškách.

## LITERATURA

1. Česká meteorologická společnost [online]: Elektronický meteorologický slovník výkladový a terminologický (eMS). <http://slovník.cmes.cz>, staženo 24. 4. 2021.
2. WMO ICA: International Cloud Atlas, 2017. <https://cloudatlas.wmo.int/en/home.html>, staženo 7. 9. 2020.
3. Baranowski S., Libersbach J.: *J. Glaciol.* 19, 489 (1977).
4. Vicena I.: *Lesn. Pr.* 79, 7 (2000).
5. Makkonen L., Ahti K.: *Atmos. Res.* 36, 185 (1995).
6. Błaś M., Sobik M.: *Geogr. Pol.* 77, 19 (2004).
7. Polkowska Ż., Sobik M., Błaś M., Klimaszewska K., Walna B., Namiesnik J.: *J. Atmos. Chem.* 62, 5 (2009).
8. Crouch G.: *National Geographic* 197, 101 (2000).
9. Whiteman C. D., Garibotti R.: *Bull. Am. Meteorol. Soc.* 94, 1319 (2013).
10. Gultepe I. a 21 spoluautorů: *Pure Appl. Geophys.* 176, 1869 (2019).
11. Fodor P., Jarošová M.: *Detekcia a predikcia hrozby námrazy na základe analýzy povetnostnej situácie a správ o počasí na letisku Žilina*, str. 57. Práce a štúdie/ Studies – KLD, Fakulta Pedas ŽU 2020.
12. Drška M.: *Námraza jako nebezpečný jav v letectve. Bakalářská práce*. Fakulta strojního inženýrství, Letecký ústav, Brno 2013.
13. Vrána J.: *Námraza a její předpověď – Námrazové kalamity v energetice na území ČR*. Práce a studie. ČHMÚ, Praha 1986.
14. Li B., Bai J., He J., Ding C., Dai X., Ci W., Zhu T., Liao R., Yuan Y.: *Coatings* 13, 301 (2023).
15. Hrudíčka B.: *Elektrotech. Obz.* 22, 49 (1933).
16. Hrudíčka B.: *Elektrotech. Obz.* 23, 9 (1934).
17. Wald E.: *Meteorol. Zpr.* 1, 77 (1947).
18. Popolansky F.: *Meteorol. Zpr.* 49, 182 (1996).
19. Berg N., Dunn P., Fenn M.: *Atmos. Environ.* 25, 915 (1991).
20. Fenn M. E., Bytnerowicz A.: *Environ. Pollut.* 81, 277 (1993).
21. Ferrier R. C., Jenkins A., Elston D. A.: *Environ. Pollut.* 87, 259 (1995).
22. Lukewille A., Semb A.: *Deposition in Norwegian Mountain Areas*. NILU OR 66/97. Kjeller, Norway 1998.
23. Nagafuchi O., Kakimoto H., Ebise S., Inoue T., Koga M.: *Water Sci. Technol.* 44, 57 (2001).
24. Migala K., Lieberbach J., Sobik M.: *Atmos. Res.* 64, 63 (2002).
25. Burns D. A.: *Atmos. Environ.* 37, 921 (2003).
26. Godek M., Blas M., Sobik M., Polkowska Z., Cichala-Kamrowska K., Namiesnik J.: *Pure Appl. Geophys.* 169, 1093 (2012).
27. Eliáš V., Tesař M., Moldan B., v knize: *Hydrology of Mountainous Areas* (Molnar L., ed.). IAHS Publication No. 190, IH, Wallingford, UK 1988.
28. Mueller-Dombois D.: *Bioscience* 37, 575 (1987).
29. Lomský B., Šrámek V.: *J. For. Sci.* 50, 533 (2004).
30. Unsworth M. H., Wilshaw J. C.: *Agric. For. Meteorol.* 47, 221 (1989).
31. Borys R. D., Hindman E. E., Demott P. J.: *J. Atmos. Chem.* 7, 213 (1988).
32. Mitchell D. L., Lamb D.: *J. Geophys. Res. Atmos.* 94, 14831 (1989).
33. Duncan L. C.: *Environ. Sci. Technol.* 26, 61 (1992).
34. Lokupitiya E., Stanton N. L., Seville R. S., Snider J. R.: *Pedobiologia* 44, 591 (2000).
35. Bridges K. S., Jickells T. D., Davies T. D., Zeman Z.,

- Hůnová I.: Atmos. Env. 36, 353 (2002).
36. Běhounek F.: *Trosečníci polárního moře*. Albatros, Praha 1971.
  37. Aas S.: Polar Res. 24, 5 (2005).
  38. Jech Č.: Czech J. Phys. 49 (Suppl 1), 41 (1999).
  39. Kolomý R.: Rozhledy matematicko-fyzikální 83, 26 (2008).
  40. Politovich M. K.: Encycl. Atmos. Sci. 358, 68 (2003).
  41. Cao Y., Tan W., Wu Z.: Aerosp. Sci. Technol. 75, 353 (2018).
  42. AVIATIONSAFETYNETWORK. Flight 1285 [online]. <https://aviationsafety.net/database/record.php?id=19851212-0>, staženo 14. 1. 2023.
  43. Rychtecká P., Urbaňcová N.: Lesn. Pr. 6, 14 (2008).
  44. Krístek Š., Holuša J.: Lesn. Cas. For. J. 60, 214 (2014).
  45. Lehtonen I., Hoppula P., Pirinen P., Gregow H.: Silva Fennica 48, 1120 (2014).
  46. Čermák P., Palovčíková D., Beránek P., 2011. Atlas poškození dřevin. LDF Menedelo (online) <https://rumex.mendelu.cz/atlasposkozenidrevin>, staženo 20. 1. 2023.
  47. Seinfeld J. H., Pandis S. N.: *Atmospheric Chemistry and Physics*. John Wiley, New York 1998.
  48. Pacyna J. M., v knize: *Encyclopedia of Ecology* (Jorgensen S. E., Fath B., ed.), str. 275. Elsevier, Oxford 2008.
  49. Braniš M., Hůnová I. (ed.): *Atmosféra a klima. Aktuální otázky ochrany ovzduší*. Karolinum, Praha 2009.
  50. Hůnová I.: Chem. Listy 110, 779 (2016).
  51. Bobbink R. a 16 spoluautorů: Ecol. Appl. 20, 30 (2010).
  52. Dirnbock T. a 16 spoluautorů: Glob. Chang. Biol. 20, 429 (2014).
  53. Braun S., Ahrends B., Alonso R., Augustin S., Garcia-Gómez H., Hůnová I., Karlsson P. E., Pihl Karlsson G., Schmitz A., Thimonier A.: Frontiers in Forests and Global Change 5, 1062223 (2022).
  54. Dammgen U., Erisman J. W., Cape J. N., Grumhage L., Fowler D.: Environ. Pollut. 134, 535 (2005).
  55. Zhang Q. a 10 spoluautorů: Ecotoxicol. Environ. Saf. 216, 112180 (2021).
  56. Granat L.: J. Great Lakes Res. 2 (Suppl. 1), 42 (1976).
  57. Puxbaum H., Simeonov V., Kalina M., Tsakovski S., Loofler H., Heimbürger G., Biebl P., Weber A., Damm A.: Chemosphere 48, 733 (2002).
  58. Wetherbee G. A., Shaw M. J., Latysh N. E., Lehmann C. M. B., Rothert J. E.: Environ. Monit. Assess. 164, 111 (2010).
  59. Torseth K., Aas W., Breivik A. M., Fjaeraa M., Fiebig M., Hjelbrekke A. G., Lund Myhre C., Solberg S., Yttri K. E.: Atmos. Chem. Phys. 12, 5447 (2012).
  60. Likens G. E., Butler T. J., Claybrooke R., Vermeylen F., Larson R.: Atmos. Environ. 245, 118031 (2021).
  61. Foken, T. (ed.): *Springer Handbook of Atmospheric Measurements*. Springer Handbooks. Springer, Cham 2021.
  62. Draaijers G. P. J., Erisman J. W.: Atmos. Environ. 27A, 43 (1993).
  63. Blas M., Polkowska Z., Sobik M., Klimaszewska K., Nowinski K., Namienik J.: Atmos. Res. 95, 455 (2010).
  64. Michna P., Werner R., Eugster W.: Atmos. Res. 151, 31 (2015).
  65. Hůnová I.: Chem. Listy 115, 436 (2021).
  66. Berg N., Heggli M., Monteverdi J.: Water, Air, Soil Pollut. 81, 25 (1995).
  67. Klimaszewska K., Polkowska Z., Namieśnik J.: Pol. J. Environ. Stud. 16, 943 (2007).
  68. Zhu C., Li J., Chen H., Cheng T., Wen L., Herrmann H., Xiao H., Chen J.: Sci. Total Environ. 722, 137911 (2020).
  69. Saitoh K., Kodama H., Sera K., Yoshimura K., Nagafuchi O.: Int. J. PIXE 15, 211 (2005).
  70. Domine F., Bock J., Voisin D., Donaldson D. J.: J. Phys. Chem. 117, 4733 (2013).
  71. Collett J. L., Prévot A. S. H., Staehelin J., Waldvogel A.: Environ. Sci. Technol. 25, 762 (1991).
  72. Collett J. L., Oberholzer B., Staehelin J.: Atmos. Environ. 276, 33 (1993).
  73. Hůnová I.: Atmosphere 11, 214 (2020).
  74. Hůnová I., Novák M., Kurfurst P., Škáchová H., Štěpánová M., Přečová E., Komárek A., Čurík J., Veselovský F., Bohdálková L.: Atmos. Environ. 270, 118877 (2022).
  75. Hůnová I., Novák M., Kurfurst P., Škáchová H., Štěpánová M., Přečová E., Veselovský F., Čurík J., Bohdálková L., Komárek A.: Sci. Total Environ. 869, 161697 (2023).
  76. Fišák J., Tesař M., Fottová D.: Water, Air, Soil Pollut. 196, 273 (2009).
  77. Fisak J., Rezacova D.: Stud. Geophys. Geod. 45, 319 (2001).
  78. Bohdalkova L., Novak M., Krachler M., Mikova J., Chrastny V., Veselovsky F., Voldrichova P., Pacherova P., Komarek A., Prechova E.: Environ. Pollut. 265, 114949 (2020).
  79. Voldrichova P., Chrastny V., Sipkova A., Farkas J., Novak M., Stepanova M., Krachler M., Veselovsky F., Blaha V., Prechova E., Komarek A., Bohdalkova L., Curik J., Mikova J., Erbanova L., Pacherova P.: Chem. Geol. 388, 130 (2014).
  80. Cimova N., Novak M., Chrastny V., Curik J., Veselovsky F., Blaha V., Prechova E., Pasava J., Houskova M., Bohdalkova L., Stepanova M., Mikova J., Krachler M., Komarek A.: Atmos. Environ. 143, 51 (2016).
  81. Novak M., Sipkova A., Chrastny V., Stepanova M., Voldrichova P., Veselovsky F., Prechova E., Blaha V., Curik J., Farkas J., Erbanova L., Bohdalkova L., Pasava J., Mikova J., Komarek A., Krachler M.: Environ. Pollut. 218, 1135 (2016).
  82. Petrash D. A., Novak M., Bohdalkova L., Krachler M., Dousova B., Curik J., Veselovsky F., Stepanova M.,

- Prechova E., Komarek A.: *Environ. Sci. Pollut. Res.* 28, 16107 (2020).
83. Bohdalkova L., Novak M., Voldrichova P., Prechova E., Veselovsky F., Erbanova L., Krachler M., Komarek A., Mikova J.: *Sci. Total Environ.* 439, 26 (2012).
84. Novak M., Jackova I., Curik J., Stepanova M., Veselovsky F., Buzek F., Vile M. A., Bufkova I., Valkova I., Adamova M., Bohdalkova L., Komarek A.: *Ecosystems* 19, 1037 (2016).
85. Paces T., Krachler M., Novak M., Stepanova M., Bohdalkova L., Prechova E.: *Environ. Pollut.* 316, 120518 (2023).

**I. Hůnová** (<sup>a</sup> *Czech Hydrometeorological Institute, Prague*, <sup>b</sup> *Charles University, Faculty of Science, Institute for Environmental Studies, Prague, Czech Republic*):  
**Rime as a Relevant Part of Atmospheric Deposition in Mountain Regions**

This review presents the rime as an interesting hydro-meteor which might substantially influence people and their environment. It summarises up-to-date knowledge on rime genesis and the factors affecting its formation and indicates its potential effects and impacts. Apart from rime's physical characteristics, this review deals with chemical composition of rime and indicates its relevance as a substantial part of atmospheric deposition, namely locally in mountain regions.

Keywords: rime, atmosphere, atmospheric deposition, ambient air pollution

## VYUŽITÍ MODERNÍCH METOD PRO STANOVENÍ REZISTENCE K ANTIBIOTIKŮM

MILADA ŠOLCOVÁ a SABINA PURKRTOVÁ

Ústav biochemie a mikrobiologie, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika  
Milada.Solcova@vscht.cz

Došlo 27.6.22, přepracováno 21.2.23, přijato 2.3.23.

Zvyšující se výskyt antibiotických rezistencí patří k závažným problémům 21. století. Výskyt bakteriálních kmenů rezistentních k antibiotikům následně zužuje spektrum vhodných antibiotik použitelných pro léčbu i běžných bakteriálních infekcí nebo pro prevenci jejich výskytu, např. v chirurgii. Čistírny odpadních vod, nemocnice, ale i potravinový řetězec patří k ohniskům, kde nejčastěji dochází ke vzniku či šíření nových i stávajících kmenů bakterií rezistentních k antibiotikům a genů rezistence k antibiotikům.

Ke stanovení antibiotických rezistencí se v laboratořích standardně používají fenotypové kultivační metody, které jsou však náročné na čas i práci a částečně i přesnou interpretaci výsledků. Z tohoto důvodu jsou hledány rychlejší alternativní metody detekce bakterií rezistentních k antibiotikům nebo přímo genů rezistence k antibiotikům. Příkladem alternativní metody detekce bakterií rezistentních k antibiotikům je například použití fenotypové metody využívající hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí a ionizací za účasti matrice s průletovým analyzátozem pro stanovení producentů beta-laktamas. Zrychlení a zároveň větší přesnost detekce poskytují genotypové metody. Pomocí polymerasové řetězové reakce lze přímo detekovat a kvantifikovat geny rezistence k antibiotikům. Pro další zrychlení a vyšší specifitu detekce ampliconů z PCR lze použít mikročipy.

Metody masivního paralelního sekvenování poskytují ucelenou informaci o rezistomu daného prostředí. Umožňují sekvenovat DNA amplicony či jednotlivé molekuly DNA pro detekci determinant antibiotické rezistence. Metody masivního paralelního sekvenování mají potenciál nahradit konvenční charakterizaci patogenů a umožňují detekci všech mikroorganismů ve vzorku (včetně obtížně kultivovatelných či nekultivovatelných mikroorganismů).

Klíčová slova: antibiotika, rezistence, geny kódující rezistenci k antibiotikům, stanovení rezistence k antibiotikům

### Obsah

1. Úvod
2. Hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí a ionizací za účasti matrice s průletovým analyzátozem (MALDI-TOF MS)
3. Polymerasová řetězová reakce
4. Metody izolace DNA
5. Izotermální amplifikace
6. DNA mikročipy
7. Masivní paralelní sekvenování
8. Závěr

### 1. Úvod

Rezistence k antibiotikům (ATB) je v současné době celosvětovým problémem v oblasti veřejného zdraví. Výskyt a šíření bakteriálních kmenů rezistentních k ATB ohrožuje většinu terapeutických a preventivních opatření pro kontrolu bakteriálních infekcí, neboť většina používaných ATB již přestává být účinná<sup>1</sup>. Tato rezistence je způsobena především nevhodnou aplikací ATB, což vystavuje

bakterie značnému evolučnímu tlaku<sup>2</sup>. Jedná se zejména o nadměrné či nesprávné používání ATB v humánní medicíně či v živočišné výrobě<sup>1</sup>. Je však nutno podotknout, že rezistence k ATB je zároveň i přirozený fenomén, který se objevil již dávno před objevem a používáním prvních ATB (cit.<sup>3</sup>).

Producenty přírodních ATB jsou některé plísňe a bakterie<sup>4</sup>. Ostatní bakterie byly tedy vystaveny působení ATB již dávno před jejich zavedením do medicíny. Právě tento kontakt bakterií s ATB v přírodním prostředí vedl ke vzniku a selekci genů zodpovědných za rezistenci k antibiotikům (ARG, antibiotic resistance genes). Tyto geny byly nalezeny v různých nedotčených ekosystémech, jako je například permafrost<sup>5</sup> či terestrický podpovrch<sup>6</sup>.

Rezistence k ATB může být přirozená nebo získaná<sup>7</sup>. Přirozená rezistence k ATB znamená, že bakterie přirozeně postrádají cílové struktury, na které dané ATB působí. Naopak získaná rezistence znamená, že se tyto cílové struktury buď dodatečně změnily (např. mutací) nebo byly získány či vyvinuty geny kódující struktury (např. specifické enzymy či ochranné proteiny), které působení ATB na tyto cílové struktury inhibují<sup>7</sup>. Získání ARG je též umožněno horizontálním genovým transferem, během



kterého dochází k přenosu ARG např. na plasmidech či pomocí transpozonů<sup>8</sup>. Mechanismy rezistence k ATB zahrnují enzymovou degradaci (např. produkce beta-laktamas) či modifikaci ATB, modifikaci cílového místa působení (např. mutace vazebných míst pro fluoro-chinolony v případě genů pro gyrasy a další topoisomerasy) a snížení koncentrace ATB v buňce (změna počtu či průměru porinů či aktivní odčerpávání ATB pomocí efluxních pump)<sup>9,10</sup>.

Vyšetření citlivosti k ATB se v laboratořích běžně provádí pomocí standardizovaných kultivačních fenotypových metod<sup>11</sup>, které testují schopnost růstu daného bakteriálního kmene v přítomnosti ATB. Nejčastějšími způsoby provedení jsou disková difuzní metoda či E-test s použitím agarových ploten, anebo mikrodiluční metoda při růstu v bujónu<sup>12</sup>.

Mezi výhody kultivačních fenotypových metod patří nízká cena, vysoká citlivost, zavedené diagnostické testy a standardizace<sup>2</sup> (např. dokumenty vydávané organizacemi Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)<sup>13</sup> a European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)<sup>14</sup>). Prvním krokem těchto metod je izolace a identifikace čistých kultur<sup>2</sup>. Omezení kultivačních fenotypových metod spočívá v tom, že některé patogeny jsou obtížně či pomalu kultivovatelné a fenotypové metody jsou též náročné na množství materiálu, čas a práci<sup>2</sup>.

## 2. Hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpčí a ionizací za účasti matrice s průletovým analyzátozem (MALDI-TOF MS)

S čistými bakteriálními kulturami pracuje i další fenotypová metoda MALDI-TOF MS, která se v klinické praxi široce používá především k přesné, rychlé a levné identifikaci mikroorganismů na základě jejich proteinového spektra<sup>15</sup>. Tato metoda však také našla uplatnění při vyšetření rezistence k ATB (cit.<sup>16</sup>).

Prvním přístupem je analýza získaného proteinového spektra s cílem stanovit pro bakteriální izoláty s určitým typem rezistence specifický proteinový profil či jeho části (tj. konkrétní vrcholy)<sup>16</sup>. Úspěšně byl takto stanoven např. typický proteinový profil tzv. VRE kmenů *E. faecium* (kmenů rezistentních k vankomycinu)<sup>17</sup>.

Druhým přístupem je využití MALDI-TOF MS pro detekci bakteriálních kmenů, které jsou producenty enzymů degradujících či modifikujících ATB. Principem je přímá detekce této enzymové aktivity, kdy dochází k detekci odpovídajících substrátů a produktů po inkubaci bakteriální kultury v roztoku ATB. Tyto změny lze pak pozorovat metodou MALDI-TOF MS jako posun jednotlivých vrcholů odpovídajících ATB (cit.<sup>18</sup>). Tento přístup byl zaveden v roce 2011 Hrabákem a spol. pro stanovení beta-laktamasové aktivity u *Pseudomonas aeruginosa* a u čeledi *Enterobacteriaceae*<sup>19</sup> a lze jej použít i pro detekci enzymové modifikace aminoglykosidů<sup>16</sup>. V případě enzymové aktivity beta-laktamas dochází k hydrolyze

beta-laktamového kruhu ATB (zvýšení molekulové hmotnosti ATB o 18 Da), případně následované spontánní dekarboxylací (snížení molekulové hmotnosti ATB o 44 Da). V porovnání s fenotypovými kultivačními metodami (minimálně 16 hodin inkubace i pro rychle rostoucí mikroorganismy) poskytuje tento přístup výrazně rychlejší výsledek<sup>13</sup>. U většiny beta-laktamas lze jejich aktivitu stanovit již po 1–2 hodinách inkubace bakteriální kultury v roztoku ATB (cit.<sup>16</sup>).

Toto stanovení lze provádět i s bakteriálními buňkami izolovanými z krevních kultur (při odstranění ostatních složek krve). Při využití MALDI-TOF MS i pro identifikaci původce onemocnění se jedná o cenný nástroj pro zahájení časné ATB terapie, kdy výsledek stanovení (identifikace bakteriálního kmene a jeho produkce beta-laktamas) je pro pozitivní krevní kulturu získán do 2–3 hodin (cit.<sup>16</sup>). Pro toto stanovení lze standardně použít např. kit MBT Sepsityper IVD kit (Bruker Daltonics, Německo)<sup>20,21</sup>.

Mezi omezení této metody patří přítomnost takových dalších mechanismů rezistence, které snižují koncentraci beta-laktamového ATB v buňce (snížení propustnosti porinů či efluxní pumpy), což výrazně či zcela snižuje míru jeho hydrolyzy přítomnými beta-laktamasami (typické např. u *Pseudomonas* spp. a *Acinetobacter* spp.). Tento problém lze vyřešit přidávkou 0,01% dodecylsulfátu sodného<sup>22</sup> ke směsi ATB a bakteriální suspenze, neboť tento detergent narušuje vnější buněčnou membránu a činí ji tak propustnou pro ATB nezávisle na působení dalších mechanismů rezistence<sup>16,22</sup>.

## 3. Polymerasová řetězová reakce

Genotypové molekulární metody analyzují DNA a lze je tak použít pro zjištění přítomnosti konkrétního ARG (včetně bodových mutací)<sup>11</sup>. Fenotypové metody mohou trvat několik dní, zatímco genotypové testy pro analýzu DNA i pouze několik hodin<sup>2,11</sup>.

Základní technikou pro analýzu DNA je amplifikace zvolených úseků pomocí polymerasové řetězové reakce (PCR)<sup>11</sup>. PCR lze použít pro detekci a/nebo kvantifikaci vybraných ARG ve vzorku testované DNA, ať již izolované z konkrétního bakteriálního kmene (výskyt ARG v genomu daného kmene) nebo z metagenomického vzorku (např. klinické vzorky, vzorky půd, odpadních vod, biofilmu, potravin). Zásadním krokem pro detekci vybraných ARG je návrh primerů, jak dostatečně specifických (detekujících požadované varianty ARG), tak selektivních (nedetekujících jiné, necílové sekvence). Pro návrh primerů je však potřeba znát sekvenci celého genu či jeho části a dodržet i další pravidla pro jejich návrh (např. obsah CG páru)<sup>11</sup>.

V odborné literatuře bylo dosud popsáno velké množství protokolů pro detekci a/nebo kvantifikaci ARG pomocí PCR, rozsah jejich standardizace je však zatím pouze omezený<sup>23</sup>. Jednotlivé PCR protokoly se liší nejen v sekvencích a počtu použitých primerů (monoplex nebo multi-

plex PCR pro detekci a/nebo kvantifikaci jednoho či více ARG), ale i v PCR reagentech a jejich koncentraci v reakční směsi a použitím reakčního protokolu (teplota a délka jednotlivých fází, počet cyklů)<sup>23</sup>. Multiplexové uspořádání PCR umožňuje provést např. paralelní detekci a/nebo kvantifikaci více ARG odpovídajících za shodný fenotyp rezistence (např. detekce různých ARG kódujících beta-laktamasy s podobným spektrem substrátů)<sup>11</sup>. V případě multiplexového uspořádání PCR však PCR amplikony musí mít rozdílné velikosti nebo je nutno použít odlišně značené DNA sondy (v případě qPCR)<sup>11</sup>.

V současné době již existuje několik databází (tabulka I), které shromažďují sekvence primerů používaných pro PCR amplifikaci ARG. Tyto sekvence byly převzaty z různých odborných zdrojů. Jednotlivé databáze se liší zejména výběrem ARG, rozsahem anotací či referenčními sekvencemi<sup>24</sup>. Dále existují různé databáze, které shromažďují referenční sekvence ARG, potřebné pro návrh primerů. Nejčastěji používané a aktualizované databáze jsou databáze CARD (cit.<sup>25</sup>) a SARG (cit.<sup>24,26</sup>). Databáze CARD si klade za cíl shromažďovat informace o široké škále ARG, bez ohledu na experimentální potvrzení jejich výskytu. Nicméně výskyt většiny ARG uložených v databázi CARD potvrzen je<sup>27</sup>. Naopak další databáze ResFinder<sup>28</sup> se přednostně soustřeďuje na ty ARG, u kterých bylo prokázáno, že jsou přítomny na mobilních genetických elementech, a proto mohou být horizontálně přenášeny mezi bakteriálními druhy<sup>27,29</sup>.

V odborné literatuře jsou nejčastěji popsány protokoly PCR pro detekci klinicky významných ARG kódujících širokospektré beta-laktamasy<sup>30</sup>, dále protokoly zaměřené na screening ARG u vybraného bakteriálního druhu (např. *Staphylococcus aureus*<sup>31</sup>) nebo screening jednotlivých skupin ARG (např. OXA beta-laktamasy<sup>32</sup>). Na trhu jsou dostupné i kity pro detekci vybraných skupin klinicky významných ARG (tabulka II) pomocí PCR. Pro detekci bodových mutací v cílových genech lze poté využít např. degenerované primery (klasická PCR) či sekvenčně specifické DNA sondy cílící na mutační oblast (qPCR) nebo rozdíly v křivce tání (qPCR)<sup>11</sup>.

## 4. Metody izolace DNA

Důležitým kritériem pro správný průběh PCR je též kvalita (především čistota – absence proteinů, RNA, dalších inhibitorů) a množství izolované DNA (cit.<sup>23</sup>). Volba konkrétního protokolu izolace DNA závisí na matici vzorku (např. čistá kultura, komplexní potravinová matrice, klinické vzorky), typu izolované DNA (chromozomální či plazmidová, intracelulární či extracelulární – volná DNA) a požadavku na její čistotu a též výtěžek<sup>23</sup>. Izolace intracelulární bakteriální DNA se obecně skládá ze tří základních kroků, a to narušení buněčné stěny bakterie (tepelně, mechanicky, sonikací, chemickými detergenty, enzymově – použitím proteinasy, lysozymu pro většinu gram pozitivních bakterií, lysostafinu pro stafylokoky aj.), oddělení DNA (např. extrakce DNA chemickými látkami na základě fázové separace a její následná precipitace, navázání na kolonu či magnetické kuličky) a purifikace DNA (degradace RNA RNasou ještě před oddělením DNA, purifikace vázané DNA)<sup>33</sup>. Mezi základní metody patří izolace DNA tepelnou lýzou, laboratorní metody pro chemickou extrakci při využití detergentu CTAB (cetyltrimethylamonium bromid) nebo komerčního přípravku TRIzol (ThermoFisher Scientific, USA) pro fázovou separaci a dále různé komerční soupravy založené na adsorpci DNA na kolony či magnetické kuličky<sup>33</sup>.

## 5. Izotermální amplifikace

Mezi další techniky pro amplifikaci DNA zavedené v poslední době patří techniky smyčkou zprostředkované izotermální amplifikace (loop-mediated isothermal amplification, LAMP) či polymerasové amplifikace s využitím rekombinasy (recombinase polymerase amplification, RPA) (cit.<sup>11</sup>). Metoda LAMP využívá DNA-polymerasu a sadu čtyř speciálně navržených primerů, které rozeznávají celkem šest různých sekvencí na cílové DNA (cit.<sup>34</sup>). Metoda LAMP amplifikuje DNA s vysokou specifitou, účinností a rychlostí v izotermálních podmínkách bez nutnosti použití termocykléru a při snadné vizuální detekci

Tabulka I  
Databáze shromažďující sekvence primerů pro amplifikaci ARG

Databáze	Vysvětlení zkratky
LCPDB <sup>56</sup>	Literature-Based, Manually-Curated Primer Pairs Database
ARGA <sup>24</sup>	Antibiotic Resistance Gene Analyzer
ARGO <sup>57</sup>	Antibiotic Resistance Genes Online
BLDB <sup>57</sup>	Beta-Lactamase Database
LacED <sup>58</sup>	Lactamase Engineering Database
CARD <sup>59</sup>	Comprehensive Antibiotic Resistance Database
SARG <sup>60</sup>	Structure ARG Reference Database
ResFinder <sup>29,30</sup>	Database of Antimicrobial Resistance Genes
FARME DB <sup>61</sup>	Functional Antibiotic Resistant Metagenomic Element Database

Tabulka II  
Přehled komerčně dostupných kitů pro detekci ARG metodou PCR

Název kitu	Detekce	Výrobce
Streck ARM-D Kits <sup>62</sup>	detekce více než 1000 variant ARG	Streck Corporate (USA)
Antibiotic resistance: <i>bla</i> <sub>GES</sub> Genesig Resistance kit <sup>63</sup>	varianty genu <i>bla</i> <sub>GES-1</sub>	PrimerDesign, Novacyt Group, (Francie)
Amplisens® MDR <sup>64</sup>	<i>bla</i> <sub>KPC</sub> , <i>bla</i> <sub>OXA</sub> ( <i>bla</i> <sub>OXA-48</sub> , <i>bla</i> <sub>OXA-162</sub> ), <i>bla</i> <sub>IMP</sub> , <i>bla</i> <sub>VIM</sub> , <i>bla</i> <sub>NDM</sub>	InterLabService Ltd. (Ruská federace)
Soupravy PCR kitů <sup>65</sup>	<i>bla</i> <sub>IMP</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> , <i>bla</i> <sub>GES</sub> , <i>bla</i> <sub>KPC</sub> , <i>bla</i> <sub>VIM</sub> , <i>bla</i> <sub>OXA</sub> , <i>bla</i> <sub>NDM</sub>	Nzytech (Portugalsko)

vzniku tzv. lamplikonů (tvorba zákalu, použití specifických barviv)<sup>35</sup>, což vede k menší časové a přístrojové náročnosti<sup>36</sup>. Použití metody LAMP pro detekci ARG bylo zatím popsáno například pro detekci genu pro širokospektrální beta-laktamasu *bla*<sub>CTX-M9</sub> (s následnou analýzou vzniklých lamplikonů pomocí restričních endonukleas)<sup>37</sup> či genů *mcr-1* až *mcr-5* u kolistin rezistentních bakterií, což bylo publikováno v roce 2019 Zhongem a spol.<sup>36</sup>. Tyto studie potvrdily, že se jedná o rychlou a spolehlivou diagnostickou techniku, kterou je možno aplikovat na klinické vzorky<sup>36,37</sup>.

Metoda RPA využívá pro amplifikaci DNA DNA-rekombinasy, která vytvoří s každým primerem samostatný komplex. Tento komplex vyhledává sekvenci dvouřetězcové DNA komplementární s primerem. Za účasti DNA-rekombinasy dojde následně k vytěsnění toho řetězce DNA, který není komplementární k primeru, a tento vytěsněný řetězec je stabilizován vazebnými proteiny. Po nasednutí primeru na komplementární vlákno DNA a uvolnění DNA-rekombinasy je ponechán 3'konec primeru přístupný pro DNA-polymerasu, která v přítomnosti deoxyribonukleosidtrifosfátů řetězec prodlouží<sup>38,39</sup>. Jedná se o vysoce citlivou a selektivní techniku izotermální amplifikace, která probíhá při teplotě 37 °C až 42 °C s minimální přípravou vzorku<sup>39</sup>. Použití této techniky bylo úspěšně testováno při detekci ARG kódujících proteiny zajišťující rezistenci k tetracyklinovým a chinolonomým ATB či polymyxinům (gen *mcr-1*)<sup>40</sup>. Ve srovnání s qPCR byla RPA metoda účinnější díky kratším reakčním dobám, jednoduššímu vybavení a vyšší citlivosti, zatímco specifita byla stejně vysoká<sup>40</sup>.

## 6. DNA mikročipy

Rychlou metodou pro detekci PCR lamplikonů ARG jsou DNA čipy. Povrch DNA čipů je tvořen jednoduchou membránou, na kterou jsou v jednotlivých místech (tzv. spoty) imobilizovány až tisíce kopií krátkých oligonukleotidových sekvencí (sondy). Tyto sondy hybridizují s komplementárními fluorescenčně značenými oligonukleotidy (např. PCR produkty)<sup>41,42</sup> za vzniku detekovatelného fluorescenčního signálu<sup>43</sup>.

DNA čipy se nejčastěji používají pro studium expresních profilů (detekce a kvantifikace cDNA vybraných

genů). Obecně je ale lze použít i pro detekci PCR lamplikonů včetně těch pro detekci ARG. V takovém případě je možná současná detekce až tisíců druhů ARG (cit.<sup>11</sup>). DNA čipy tak lze použít ke zkoumání diverzity ARG, jejich prostorového a časového výskytu včetně šíření ARG v rámci a mezi různými hostitelskými zdroji, populacemi a prostředími<sup>44</sup>.

Mezi nevýhody použití DNA čipů patří jejich poměrně vysoká pořizovací cena. Nejnákladnější komponenty jsou sondy, jejich připojení k nosiči a dále značení PCR lamplikonů. I přes zavádění technik masivního paralelního sekvenování patří DNA čipy mezi perspektivní metody, které jsou dále vyvíjeny<sup>2</sup>.

V praxi jsou dostupné i komerčně vyráběné DNA čipy pro detekci vybraných ARG jako např. DNA čip IDENTIBAC AMR-ve Genotyping kit Version 05 (CLONDIAG/ALERE, Německo) pro detekci determinant antibiotické rezistence u klinických izolátů *Klebsiella pneumoniae*<sup>45</sup> nebo souprava Pantype AS-1 (Alere Technologies GmbH, Německo), která detekuje 60 genů pro faktory virulence a 47 ARG u *Escherichia coli*<sup>46</sup>.

## 7. Masivní paralelní sekvenování

Sekvenování ARG umožňuje stanovit jejich jednotlivé varianty, sekvenování celých bakteriálních genomů poté umožňuje nacházet i nové ARG. Tyto znalosti o ARG jsou pak nástrojem pro vývoj nových a co nejvíce účinných metod pro detekci, kvantifikaci a sledování přenosu ARG (cit.<sup>47</sup>).

První metody sekvenování DNA (sekvenování první generace) byly zavedeny v polovině 70. let 20. století. Tyto metody (Sangerova metoda, metoda chemického štěpení vyvinutá Maxamem a Gilbertem) umožňovaly sekvenaci v řádu stovek bází za jeden den<sup>27</sup>.

Sangerova metoda sekvenování zůstala primární technologií sekvenování až do roku 2005 (cit.<sup>27</sup>). Situace se změnila s rozvojem a zvýšením výkonu sekvenačních technologií druhé a třetí generace (označovaných souhrnně jako masivní paralelní sekvenování, Massive Parallel Sequencing, MPS; dříve též metody sekvenování nové generace, Next Generation Sequencing, NGS)<sup>1,27</sup>. Obecný pracovní postup metod MPS zahrnuje izolaci DNA, přípravu tzv. knihovny (fragmentace vysokomolekulární

DNA do fragmentů o délce vhodné pro danou platformu; ligace adaptérů na tyto fragmenty; a případně amplifikace fragmentů v závislosti na dané platformě) a samotné sekvenování<sup>27,48</sup>.

Sekvenování druhé generace umožňuje sekvenovat krátké úseky maximálně o délce stovek párů bází (tzv. krátké čtení) a je založeno na souběžné imobilizaci mnoha molekul templátu a jejich následné mnohonásobné amplifikaci v daném místě (za vytvoření tzv. sekvenačních spotů). V jednotlivých spotech se tak vytváří obrovské množství jednovláknových kopií původních nukleotidových sekvencí. Tyto kopie jsou následně paralelně čteny postupným připojováním fluorescenčně značených nukleotidů, kdy právě množství kopií činí fluorescenční signál detekovatelným<sup>1</sup>. Jednotlivé platformy se liší způsobem amplifikace a sekvenačního čtení. Druhé generaci dominuje metoda Illumina Solexa, která oproti metodám Roche 454 system (0,7 Gb) či AB SOLiD system (120 Gb) může produkovat až 600 Gb sekvenačních dat<sup>49</sup> (1 Gb odpovídá sekvenci o celkové délce  $10^9$  nukleotidů)<sup>50</sup>.

Principem sekvenování třetí generace je přímá sekvenace jednotlivých molekul DNA bez nutnosti jejich předchozí amplifikace, k čemuž bylo vyvinuto více odlišných metod. Například jednomolekulové sekvenování v reálném čase (single-molecule real-time sequencing, SMRT) umožňuje sledovat replikaci jediné molekuly DNA v reálném čase. Replikace probíhá ve speciální komůrce o rozměru nanometrů, která zároveň slouží jako optické vlákno pro čtení fluorescenčního signálu po přiřazení jednotlivých fluorescenčně značených deoxynukleotidů<sup>51</sup>. Tento přístup používá např. systém PacBio RSII společnosti Pacific Biosciences, jehož provoz je ovšem finančně náročný<sup>1</sup>.

Nanopórové sekvenování je naopak založeno na detekci změn elektrického proudu, pokud vlákno DNA prochází nanopórem. Tyto změny elektrického proudu jsou pro každou procházející bázi různé, což je způsobeno jejich různým odporem. Tento systém nanopórového sekvenování byl vyvinut v roce 2014 společností Oxford Nanopore Technologies a umožňuje sekvenování úseků dlouhých až 200 000 bází<sup>52,53</sup>. Analýzu je možno provádět v reálném čase, neboť výsledky jsou generovány již v průběhu vlastního měření. K dispozici jsou různé sekvenovací platformy (MinION, GridION a další) lišící se počtem nanopórů a použitých průtokových cel. Například platforma MinION o rozměrech  $105 \times 23 \times 33$  mm má 512 pórů a toto zařízení lze připojit ke standardnímu portu USB<sup>1</sup> na jakémkoliv počítači s dostatečnými technickými parametry (16 GB RAM, 1 TB interní SSD)<sup>53</sup>. Mobilita a možnost měřit v reálném čase učinily nanopórové sekvenování zvláště atraktivní pro klinickou diagnostiku v terénu. Náklady na jednotlivé analýzy vzhledem k množství získaných sekvenačních dat se navíc v porovnání s předchozími systémy výrazně snížily<sup>1</sup>. Jedním z hlavních problémů platform s „dlouhým čtením“ pro detekci a sekvenaci ARG je vyšší míra chyb ve srovnání s technologiemi „krátkého čtení“. Míra této chyby tak může být příliš vysoká např. pro přesnou detekci specifických

jednonukleotidových polymorfismů (SNP) spojených s některými mechanismy antibiotické rezistence. Tato nevýhoda však může být částečně překonána dosažením vyšší četnosti počtu přečtení dané báze (tzv. vyšší hloubka čtení) a zlepšením algoritmů pro čtení jednotlivých bází ze získaného chromatogramu (tj. přiřazování báze k vrcholům chromatogramu). V současné době jsou nicméně systémy Illumina převládajícími platformami v klinických laboratořích<sup>1</sup>.

Metody MPS (zvláště nanopórové sekvenování) výrazně snížily cenu sekvenačních analýz a učinily je široce přístupnými. Použití metod MPS v mikrobiologii tak našlo časté využití například jako metoda pro rutinní sekvenování mikrobiálních genomů<sup>47</sup>. Další slibnou oblastí pro využití metod MPS se vztahem k ARG jsou metagenomické studie. Použití metod MPS umožňuje přímo detekovat všechny mikroorganismy přítomné ve vzorku včetně těch, které jsou kultivačně náročné nebo nekultivovatelné<sup>27</sup>. Při použití kroku reverzní transkripce lze pak detekovat i RNA viry<sup>27</sup>.

Cílem klinické metagenomiky je získat o analyzovaném vzorku informace klinického významu, jako je identifikace přítomných patogenů až na úroveň druhu a predikce jejich citlivosti k antimikrobiálním látkám na základě detekce sekvencí ARG pro účely zavedení co neúčinnější antibiotické terapie<sup>27</sup>. Klinická metagenomika za využití MPS představuje rychlý a obecný přístup pro získání všech těchto lékařsky relevantních informací během 6–8 hodin, zatímco současná doba provedení konvenčních kultivačních metod je 48 hodin. Nevýhodou této aplikace jsou vysoké náklady, nedostatečná automatizace a standardizace<sup>27</sup>.

Metody MPS lze využít i pro detekci a studium ARG v environmentálních<sup>27</sup> i dalších metagenomických studiích (např. metagenomické studie potravinového řetězce)<sup>54</sup>. Environmentální rizika spojená s antibiotickými rezistencemi lze rozdělit na dva typy: riziko šíření rezistentních kmenů klinicky významných patogenů v prostředí a riziko vzniku a selekce nových variant či nových typů ARG, které by později mohly být přeneseny do klinicky významných patogenů<sup>27</sup>. Metody MPS aplikované na DNA izolovanou z daného prostředí umožňují detekovat a prozkoumat mnohem větší soubor ARG najednou než dosud používané metody PCR a mají i výrazně nižší detekční limit pro detekci jednotlivých ARG i schopnost detekovat dosud nepopsané nové ARG či jejich varianty. Metody MPS by tak mohly být základním kamenem pro systém včasného varování o budoucích rizicích spojených s ARG. Výhodou metod MPS je i skutečnost, že MPS metody umožňují snadné zkoumání i již archivovaných vzorků izolovaných ze životního prostředí, a tím i retrospektivně sledovat původ ARG a jejich šíření mezi různými prostředími. Tyto retrospektivní analýzy pomáhají vybrat, jaké strategie by byly účinné k zabránění šíření antibiotických rezistencí<sup>27</sup>.

Využití MPS pro detekci ARG v sekvenačních datech (standardně ve formátu fast5 a fastq) vyžaduje jejich analýzu specializovanými bioinformatickými nástroji.

V případě nanopórového sekvenování jsou tak např. přímým výstupem sekvenace soubory typu fast5, které jsou převedeny do souborů typu fastq tzv. procesem přiřazení bázi (anglicky basecalling) (probíhá ve volně stažitelném software MinKNOW, Oxford Nanopore Technologies, UK)<sup>53</sup>. Detekci ARG ve fastq souborech umožňují poté různé software, které získané sekvence (jak samostatně, tak po sestavení bakteriálního genomu v případě celogenomového sekvenování) srovnávají se sekvencemi ARG v databázích. Jedná se např. o volně dostupné software EPI2ME (ONT, UK) nebo ResFinder<sup>29</sup>, které využívají databázi CARD nebo další programové balíčky za využití programovacího jazyka R či v operačním systému Linux jako např. program Staramr<sup>55</sup>. Data pro jednotlivé bakteriální kmeny poté umožňují i srovnání fenotypového projevu s přítomností detekovaných ARG (cit.<sup>55</sup>).

## 8. Závěr

Vznik a šíření rezistence k ATB patří mezi závažné problémy současné doby. Geny zodpovědné za tyto rezistence (ARG) se vyskytují v nejrůznějších prostředích včetně zdravotnických zařízeních, čistíren odpadních vod či v potravinovém řetězci, kde dochází k jejich předávání a ke vzniku bakteriálních kmenů rezistentních k ATB. Z tohoto důvodu je nutné zavádět efektivní metody pro detekci ARG a předcházet tak jejich šíření a vzniku nových variant. Pro detekci ARG se nejčastěji používá metoda PCR, mikročipy a metody MPS, které umožňují sekvenovat celé bakteriální genomy, DNA z metagenomických vzorků a nacházet tak i nové ARG.

### Seznam zkratk

ARG	antibiotic resistance genes, geny zodpovědné za rezistenci k antibiotikům
ATB	antibiotics, antibiotika
PCR	polymerase chain reaction, polymerasová řetězová reakce
LAMP	loop mediated isothermal amplification, smyčkou zprostředkovaná izotermální amplifikace
RPA	recombinase polymerase amplification, polymerasová amplifikace s využitím rekombinasy
MPS	massive parallel sequencing, masivní paralelní sekvenování

### LITERATURA

- Escuyer V.: *Clin. Lab. Sci.* 32, 1 (2019). doi: 10.29074/ascls.119.001784.
- Wolff N., Hendling M., Schönthaler S., Geiss A. F., Barišić I.: *Sens. Bio-Sens. Res.* 23, 100266 (2019).
- Martínez J. L.: *Front Microbiol.* 3, 1 (2012).
- Hutchings M. I., Truman A. W., Wilkinson B.: *Curr. Opin. Microbiol.* 51, 72 (2019).
- D'Costa V. M. a 12 spoluautorů: *Nature* 477, 457 (2011).
- Brown M. G., Balkwill D. L.: *Microb. Ecol.* 57, 484 (2008).
- Reygaert W. C.: *AIMS Microbiol.* 4, 482 (2018).
- Chan K.-G.: *Expert Rev. Anti-Infect. Ther.* 14, 617 (2016).
- Verraes C. a 14 spoluautorů: *Int. J. Environ. Res. Public Health* 10, 2643 (2013).
- Munita J. M., Arias C. A.: *Microbiol. Spectrum* 4, 481 (2016).
- Anjum M. F., Zankari E., Hasman H.: *Microbiol. Spectrum* 5, (2017). doi: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0011-2017.
- Ledina T., Bulajić S., Đorđević J.: *Veterinary Journal of Republic of Srpska* 18, 216 (2018). doi: 10.7251/VETJEN1801207L.
- CLSI: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/>, staženo 1. 12. 2022.
- EUCAST: <http://www.eucast.org>, staženo 1. 12. 2022.
- Murray P. R.: *J. Mol. Diagn.* 14, 419 (2012).
- Kostrzewa M., Sparbier K., Maier T., Schubert S.: *Proteomics: Clin. Appl.* 7, 767 (2013).
- Griffin P. M., Price G. R., Schooneveldt J. M., Schlebusch S., Tilse M. H., Urbanski T., Hamilton B., Venter D.: *J. Clin. Microbiol.* 50, 2918 (2012).
- Sparbier K., Schubert S., Weller U., Boogen C., Kostrzewa M.: *J. Clin. Microbiol.* 50, 927 (2012).
- Hrabak J., Walkova R., Studentova V., Chudackova E., Bergerova T.: *J. Clin. Microbiol.* 49, 3222 (2011).
- Jung J. S., Popp C., Sparbier K., Lange C., Kostrzewa M., Schubert S.: *J. Clin. Microbiol.* 52, 924 (2014).
- Oviaño M., Fernández B., Fernández A., Barba M. J., Mourinho C., Bou G.: *Clin. Microbiol. Infect.* 20, 1146 (2014).
- Hrabak J. a 10 spoluautorů: *J. Clin. Microbiol.* 50, 2441 (2012).
- Miłobedzka A. a 11 spoluautorů: *J. Hazard. Mater.* 424, 127407 (2022).
- Wei Z., Wu Y., Feng K., Yang M., Zhang Y., Tu Q., Wang J., Deng Y.: *Environ. Int.* 128, 137 (2019).
- Alcock B. P. a 33 spoluautorů: *Nucleic Acids Res.* 48, D517 (2019).
- Yin X., Jiang X.-T., Chai B., Li L., Yang Y., Cole J. R., Tiedje J. M., Zhang T.: *Bioinformatics* 34, 2263 (2018).
- AMR Control: <http://resistancecontrol.info/2019-contents-list/>, staženo 27. 2. 2022.
- Florensa A. F., Kaas R. S., Clausen P., Aytan-Aktug D., Aarestrup F. M.: *Microb. Genomics* 8, 1 (2022). doi: 10.1099/mgen.0.000748.
- Bortolaia V. a 34 spoluautorů: *J. Antimicrob. Chemother.* 75, 3491 (2020).
- Willemsen I., Hille L., Vrolijk A., Bergmans A., Kluytmans J.: *J. Med. Microbiol.* 63, 540 (2014).
- Strommenger B., Kettlitz C., Werner G., Witte W.: *J. Clin. Microbiol.* 41, 4089 (2003).
- Dallenne C., Da Costa A., Decre D., Favier C., Arlet G.:

- J. Antimicrob. Chemother. 65, 490 (2010).
33. Ahmed O., Asghar A., Elhassan M.: Afr. J. Microbiol. Res. 8, 598 (2014).
  34. Notomi T., Okayama H., Masubuchi H., Yonekawa T., Watanabe K., Amino N., Hase T.: Nucleic Acids Res. 28, E63 (2000).
  35. Lencova S. Z. K., Akhatova D., Demnerova K.: Chem. Listy 113, 292 (2019).
  36. Zhong L. L. a 14 spoluautorů: Infect. Drug Resist. 12, 1877 (2019).
  37. Thirapanmethee K., Pothisamutyothin K., Nathisuwan S., Chomnawang M. T., Wiwat C.: Microbiol. Immunol. 58, 655 (2014).
  38. James A., Macdonald J.: Expert Rev. Mol. Diagn. 15, 1475 (2015).
  39. Lobato I. M., O'Sullivan C. K.: TrAC, Trends Anal. Chem. 98, 19 (2018).
  40. Xu J., Wang X., Yang L., Kan B., Lu X.: J. Med. Microbiol. 67, 1682 (2018).
  41. Fluit A. C., Visser M. R., Schmitz F. J.: Clin. Microbiol. Rev. 14, 836 (2001).
  42. Nsofor A.: J. Bacteriol. Res. 5, 68 (2013).
  43. Govindarajan R., Duraiyan J., Kaliyappan K., Palanisamy M.: J. Pharm. BioAllied Sci. 4, S310 (2012).
  44. Call D. R., Bakko M. K., Krug M. J., Roberts M. C.: Antimicrob. Agents Chemother. 47, 3290 (2003).
  45. Charnock C., Samuelsen Ø., Nordlie A.-L., Hjeltnes B.: Curr. Microbiol. 75, 163 (2018).
  46. Gwida M. a 11 spoluautorů: Vet. Microbiol. 240, 108539 (2020).
  47. Behjati S., Tarpey P. S.: Arch. Dis. Child Educ. Pract. Ed. 98, 236 (2013).
  48. Buermans H. P., den Dunnen J. T.: Biochim. Biophys. Acta 1842, 1932 (2014).
  49. Liu L., Li Y., Li S., Hu N., He Y., Pong R., Lin D., Lu L., Law M.: J. Biomed. Biotechnol. 2012, 251364 (2012).
  50. <https://www.oxfordreference.com>, staženo 6. 12. 2022.
  51. Ardui S., Ameer A., Vermeesch J. R., Hestand M. S.: Nucleic Acids Res. 46, 2159 (2018).
  52. Amarasinghe S. L., Su S., Dong X., Zappia L., Ritchie M. E., Gouil Q.: Genome Biol. 21, 30 (2020).
  53. Nanoporetech: <https://nanoporetech.com/>, staženo 11. 1. 2021.
  54. Solcova M., Demnerova K., Purkrťova S.: Microorganisms 9, 937 (2021).
  55. Bharat A. a 22 spoluautorů: Microorganisms 10, 292 (2022).
  56. Gorecki A., Decewicz P., Dziurzynski M., Janeczko A., Drewniak L., Dziewit L.: Water Res. 161, 211 (2019).
  57. Naas T., Oueslati S., Bonnin R. A., Dabos M. L., Zavalá A., Dortet L., Retailleau P., Iorga B. I.: J. Enzyme Inhib. Med. Chem. 32, 917 (2017).
  58. Thai Q. K., Bös F., Pleiss J.: BMC Genomics 10, 390 (2009).
  59. Jia B. a 22 spoluautorů: Nucleic Acids Res. 45, D566 (2016).
  60. Yang Y., Jiang X., Chai B., Ma L., Li B., Zhang A., Cole J. R., Tiedje J. M., Zhang T.: Bioinformatics 32, 2346 (2016).
  61. Wallace J. C., Port J. A., Smith M. N., Faustman E. M.: Database 2017, (2017). doi: 10.1093/database/baw165.
  62. Streck: <https://www.streck.com/products/molecular/antibiotic-resistance-kits/>, staženo 12. 12. 2022.
  63. Genesig: <https://www.genesig.com/products/9670-antibiotic-resistance-blages>, staženo 12. 12. 2022.
  64. InterLabService: [https://interlabservice.ru/upload/medialibrary/bb1/Product\\_list\\_2019.pdf](https://interlabservice.ru/upload/medialibrary/bb1/Product_list_2019.pdf), staženo 12. 12. 2022.
  65. Nzytech: <https://www.nzytech.com/products-services/category/molecular-diagnostics/human-pathogen/antibiotic-resistance/>, staženo 12. 12. 2022.

**M. Šolcová and S. Purkrťová** (*Department of Biochemistry and Microbiology, University of Chemistry and Technology, Prague*): **Application of Modern Methods for the Determination of Antibiotic Resistance**

The increasing occurrence of antibiotic resistance is one of the major problems of the 21st century. The occurrence of bacterial strains resistant to antibiotics subsequently narrows the spectrum of suitable antibiotics usable for the treatment of common bacterial infections or for the prevention of their occurrence, e.g., in surgery. Wastewater treatment plants, hospitals, and also the food chain belong to the hotspots, where the emergence and spread of new or existing strains of antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes occur most frequently.

Phenotypic culture methods are routinely used in laboratories to determine antibiotic resistance, but they are laborious and time-consuming and the interpretation of exact results is also difficult. For this reason, faster alternatives for the detection of antibiotic resistant bacteria or even antibiotic resistance genes are sought. Such an example of an alternative method for the detection of antibiotic resistant bacteria is the use of the matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry phenotypic method to identify the beta-lactamase producers. Genotype methods provide faster analysis and, at the same time, more accurate detection. Antibiotic resistance genes can be directly detected and quantified by polymerase chain reaction. Microarrays can be used to further speed up and increase the specificity of PCR amplicons detection. Massive parallel methods provide comprehensive information on the resistoma of the specific environment. They facilitate sequencing of individual DNA molecules or amplicons to detect determinants of antibiotic resistance. Massive parallel methods have the potential to replace conventional pathogen characterization and allow the detection of all microorganisms in a sample (including difficult-to-cultivate or noncultivable microorganisms).

**Keywords:** antibiotics, resistance, antibiotic resistance genes, antibiotic resistance determination

## IZOLÁCIA PRÍRODNÝCH ZLÚČENÍN S ORGANOLEPTICKÝMI VLASTNOSŤAMI POUŽITÍM VYBRANÝCH POKROČILÝCH EXTRAKČNÝCH TECHNÍK

VERONIKA VÝBOHOVÁ<sup>a,b</sup> a KATARÍNA HROBOŇOVÁ<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Slovenská technická univerzita v Bratislave, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Ústav analytickej chémie, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, <sup>b</sup> Axxence Slovakia s.r.o., Mickiewiczova 9, 811 07 Bratislava, Slovensko  
veronika.vybohova@stuba.sk, katarina.hrobonova@stuba.sk

Došlo 18.1.23, prijaté 20.3.23.

Tento článok predstavuje prehľad vybraných pokročilých techník extrakcie tuhá fáza – kvapalina používaných na extrakciu zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami z prírodných zdrojov. Tieto zlúčeniny sú dôležitými prísadami do potravín, kozmetických a farmaceutických produktov. Najčastejšie používané techniky sú extrakcia podporená ultrazvukom a extrakcia podporená mikrovlnným žiarením, aj keď ďalšie účinné techniky zahŕňajú extrakciu rozpúšťadlom pri zvýšenom tlaku, extrakciu tekutinou v nadkritickom stave, pulzové elektrické pole a extrakciu podporenú enzýmami. Tieto techniky znižujú alebo eliminujú množstvo toxických rozpúšťadiel potrebných na extrakciu, skracujú čas extrakcie a väčšinou sú energeticky účinnejšie. Nízkoenergetické extrakčné podmienky (pulsové elektrické pole a enzýmy) môžu lepšie zachovať zlúčeniny citlivé na teplo, pH a svetlo.

Kľúčové slová: organoleptické vlastnosti, prírodné materiály, extrakcia tuhá látka – kvapalina

### Obsah

1. Úvod
2. Prírodné zlúčeniny s organoleptickými vlastnosťami
3. Izolácia zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami z prírodných materiálov
  - 3.1. Extrakcia tuhá fáza – kvapalina
    - 3.1.1. Extrakcia podporená mikrovlnným žiarením
    - 3.1.2. Extrakcia podporená ultrazvukom
    - 3.1.3. Extrakcia tekutinou v nadkritickom stave
    - 3.1.4. Extrakcia rozpúšťadlom pri zvýšenom tlaku
    - 3.1.5. Extrakcia podporená pulzovým elektrickým poľom
    - 3.1.6. Enzýmami podporená extrakcia
4. Záver a vyhliadky do budúcnosti

### 1. Úvod

Prírodné materiály (rastlinného, živočíšneho alebo mikrobiologického pôvodu) boli oddávna dôležitým zdrojom látok s organoleptickými vlastnosťami. Niektoré z týchto prírodných chemikálií patrili medzi prvé organické chemikálie, ktoré boli izolované a charakterizované, počnúc mentolom v roku 1771 (cit.<sup>1</sup>). Mnohé zlúčeniny izolované z prírodných zdrojov, zvyčajne rôzne esenciálne oleje alebo zložky rastlinných extraktov, sa dlhodobo používajú na výrobu ochucovadiel a vôní. V devätnástom

a dvadsiatom storočí sa izolované látky začali používať aj ako udržateľné východiskové zlúčeniny na prípravu ďalších chemikálií s organoleptickými vlastnosťami pomocou chemických, enzymatických či mikrobiálnych procesov<sup>2</sup>. Izolácia cieľových zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami z prírodných zdrojov predstavuje náročnú úlohu vzhľadom na prítomnosť mnohých ďalších zlúčenín v primárnom extrakte a tiež z dôvodu nedostatku procesných informácií. Ko-extrahované látky, ktoré majú podobné chemické a fyzikálne vlastnosti ako cieľová zlúčenina, významne ovplyvňujú účinnosť vybranej izolačnej/extrakčnej techniky<sup>3</sup>.

V úvode tohto prehľadového článku sú uvedené charakteristické vlastnosti prírodných zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami, ich význam a využitie v rôznych oblastiach priemyslu a odvetviach. Ďalšia časť sa zaoberá pokročilými technikami používanými na ich izoláciu z komplexných matric. Uvedené sú pokročilé extrakčné techniky v systéme tuhá fáza – kvapalina, ich výhody a nevýhody. Vybrané pokročilé extrakčné techniky, extrakcia podporená mikrovlnným žiarením, ultrazvukom, pulzovým elektrickým poľom či enzýmami, extrakcia tekutinou v nadkritickom stave a rozpúšťadlom pri zvýšenom tlaku, sú stručne charakterizované, dokumentované príkladmi ich využitia a podmienkami izolácie vybraných zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami. V závere je zhrnutý význam týchto metód a perspektívy do budúcnosti.

## 2. Prírodné zlúčeniny s organoleptickými vlastnosťami

Organoleptické vlastnosti látok sú charakteristiky, ktoré je možné hodnotiť ľudskými zmyslami. Organoleptika je teda zmyslové posudzovanie, ktoré využíva hlavné zmyslové vnemy na hodnotenie vlastností látok (vzhľad, vôňa, chuť, atď.). Na základe senzorického hodnotenia možno príchuť opísať ako kombináciu chuti, vône a chemických vnemov. Vo všeobecnosti existuje päť základných chutí: sladkosti<sup>4</sup>, kyslosti<sup>5</sup>, slanosti<sup>6</sup>, horkosti<sup>7</sup> a umami (výskumy naznačujú, že tuk môže tiež vyvolávať chuť<sup>8</sup>). Vôňa zahŕňa vnemy prežívané cez orto- a retro-nazálne cesty, napríklad vanilkové a citrónové arómy. Chemestetické (chemicky stimulovaný pocit bolesti a teploty v oku, nose, ústach a krku) vnemy aktivujú trojklaný nerv, ako napríklad pálenie od kapsaicínu z feferónok alebo chladivý mentol z mäty<sup>9</sup>.

Vôňa má dominantnú úlohu pri ovplyvňovaní ľudského apetítu. Na detekcii aromatických zlúčenín sa podieľa približne 400 aktívnych čuchových receptorov. Prchavé zlúčeniny extrahované z rastlín sa využívajú ako prídavné látky v parfumoch, arómach a iných kozmetických výrobkoch, no uplatnenie majú aj v potravinárskom, farmaceutickom priemysle a poľnohospodárstve nielen ako príchuť, vôňa či farbivá, ale aj pre ich ďalšie biologické účinky, napr. antibakteriálne (linalool), antivírusové, antifungálne (geraniol), antiparazitické (tymol), insekticídne (eugenol), analgetické (metyl salicylát), protirakovinové (kurkumín), neuroprotektívne (quercetin), psychofyziologické (arómy) a spomalenie starnutia (kurkumín) účinky<sup>10</sup>. Prírodné zlúčeniny s organoleptickými vlastnosťami zahŕňajú rôzne typy zlúčenín, ktoré možno zaradiť do niekoľkých skupín, alkoholy, aldehydy, ketóny, estery, kyseliny, fenoly a heterocyklické zlúčeniny.

Prírodné zlúčeniny s organoleptickými vlastnosťami sa najčastejšie a v najväčších množstvách izolujú z esenciálnych olejov získaných väčšinou destiláciou rôznych častí rastlín alebo priamo extrakciou z rastlinnej hmoty. Okrem izolácie týchto zlúčenín z uvedených „tradičných“ zdrojov sa začali izolovať aj z médií z mikrobiálnych procesov a z fermentačných zmesí, kde môžu byť ako primárny alebo vedľajší produkt. Získavanie zlúčenín z vedľajších potravinárskych produktov, prípadne z „odpadu“ a biomasy/fytomasy je potenciálnym a aj ekologickým prístupom do budúcnosti<sup>11</sup>.

## 3. Izolácia zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami z prírodných materiálov

Chemický spracovateľský priemysel čelí výzvam zameraným na vývoj nových produktov, zefektívnenie existujúcich procesov smerovaných na zníženie kapitálových a prevádzkových nákladov, či zvýšenie bezpečnosti a ekologickosti postupov. V súvislosti s tým sa vo veľkej miere uprednostňujú chemikálie získavané z prírodných

materiálov. Aby sa vyhovelo uvedeným požiadavkám, je potrebný systematický prístup k navrhovaniu separačného procesu pre komerčnú izoláciu a čistenie prírodných zložiek, ktorý často pozostáva z kombinácie viacerých extrakčných/separačných techník.

### 3.1. Extrakcia tuhá fáza – kvapalina

Účinnosť extrakcie tuhá fáza – kvapalina (solid-liquid extraction, SLE) závisí od typu vzorky a fyzikálno-chemických vlastností analytov. Voľba extrakčného rozpúšťadla súvisí s ich rozpustnosťou. Klasické SLE techniky zahŕňujú maceráciu, perkoláciu (premývanie) a extrakciu v Soxhletovom extraktore<sup>12</sup>. Sú mnohokrát časovo náročnejšie, a preto sa nahrádzajú pokročilejšími technikami, ktorých cieľom je aj zvýšiť účinnosť SLE. V oboch prípadoch sa v súčasnosti využívajú aj alternatívne extrakčné rozpúšťadlá, ktorých príklady využitia sú popísané v nasledujúcich kapitolách.

#### 3.1.1. Extrakcia podporená mikrovlnným žiarením

Extrakcia podporená mikrovlnným žiarením (microwave-assisted extraction, MAE) je rýchly, účinný a aj ekonomicky výhodnejší (menšia alebo žiadna spotreba rozpúšťadla v porovnaní s klasickými extrakčnými metódami) proces na extrakciu látok z rastlinných materiálov. V MAE bioaktívnych zlúčenín z rastlín sa mikrovlnná energia distribuuje priamo do tkanív rastlinných materiálov prostredníctvom interakcií molekúl látok s mikrovlnným žiarením (mikrovlnný výkon 350–600 W), pričom dochádza k jej premene na tepelnú energiu. Toto teplo zvyšuje medzibunkový tlak, čo spôsobuje prasknutie rastlinných buniek a uvoľňovanie zlúčenín do rozpúšťadla počas extrakcie<sup>13,14</sup>.

MAE je vhodnou metódou na extrakciu účinných látok v krátkom časovom intervale (5–30 min) s použitím menšej spotreby rozpúšťadla. Príkladom je extrakcia fenolových látok z jablčných výliskov<sup>15</sup>, betaláinu z dračieho ovocia Pitahaya<sup>16</sup>, antokyanínu z levandule (*Lavandula pedunculata* L.)<sup>17</sup>, antokyanínu a fenolových kyselín z višne Marasca<sup>18</sup>. Metóda MAE bez použitia rozpúšťadla sa použila na extrakciu metyleugenolu, safrolu, eukalyptolu, limonénu a borneolu z gáfrovníka<sup>19</sup> (extrakčným rozpúšťadlom bola voda prítomná v rastlinnom materiáli). Skupina zlúčenín, ako sú limonén, citral, dekanal, dodekanal, geraniol, eugenol a  $\beta$ -pinén, sa izolovala z pomarančovej kôry pomocou MAE za použitia iónových kvapalín<sup>20</sup>. Voda sa použila ako extrakčné činidlo pre extrakciu eukalyptolu, linaloolu a terpinén-4-olu z vavrínu pravého<sup>21</sup>. Uvedené zlúčeniny získané z gáfrovníka a vavrínu pravého sa používajú v parfumerskom priemysle. Táto technika však nie je vhodná pre extrakciu tepelne nestabilných zlúčenín, keďže pôsobením mikrovlnného žiarenia dochádza aj k výraznému ohrevu extrahovanej zmesi. Príklady aplikácií MAE pre extrakciu zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami z prírodného materiálu dokumentuje tab. I.

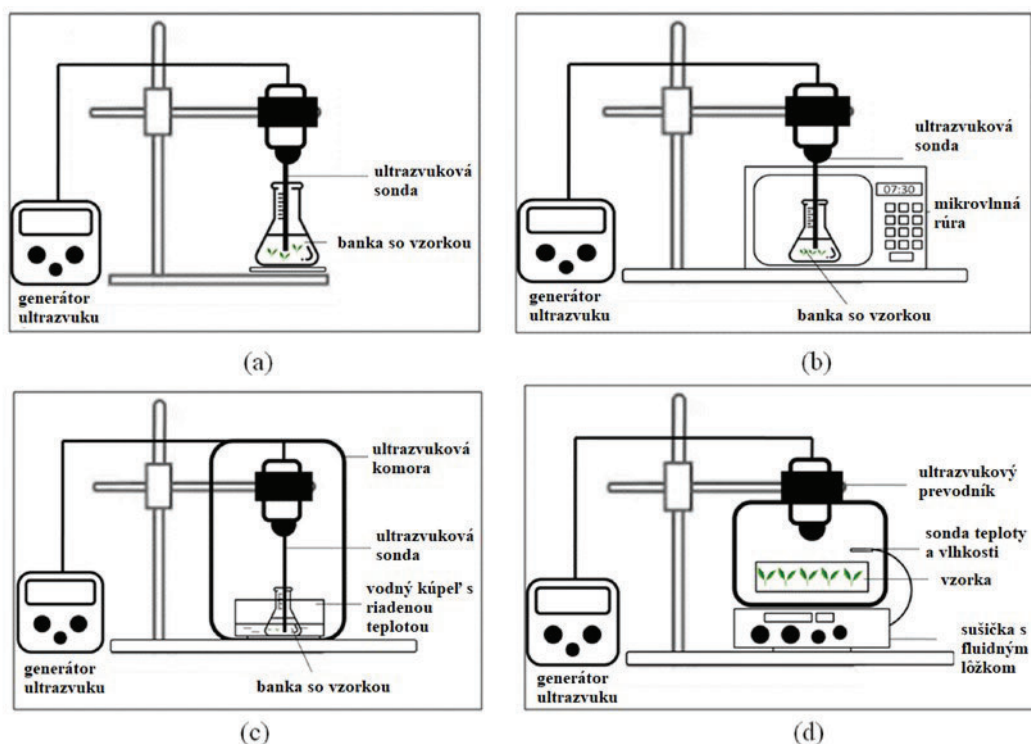


### 3.1.2. Extrakcia podporená ultrazvukom

Extrakcia podporená ultrazvukom (ultrasound-assisted extraction, UAE) zahŕňa desorpciu a difúziu rozpustenej látky z rastlinnej bunky do extrakčného rozpúšťadla. UAE umožňuje dosiahnutie vyšších výťažkov extrakcie z pórovitých substrátov v dôsledku zvýšenej solvácie a rýchlosti prenosu hmoty v rastlinnej bunke<sup>22</sup>. Výhodou UAE je dosiahnutie účinnej extrakcie v krátkom časovom intervale (5–60 min) s menším množstvom rozpúšťadla v porovnaní s klasickými extrakčnými metódami a vhodnosť aj pre tepelne nestabilné zlúčeniny, keďže sa väčšinou realizuje pri laboratórnej teplote. Avšak dlhšie extrakčné časy môžu prirodzene zvýšiť vnútornú teplotu v extrakčnej nádobe. Aplikáciu UAE (pomocou ultrazvukovej sondy) možno kombinovať s ďalšími technológiami, napr. sušením, pôsobením mikrovlnného žiarenia alebo vodným kúpeľom na zabezpečenie konštantnej teploty, ako je znázornené na obr. 1. Príklady aplikácií UAE pre extrakciu dimetyl disulfidu, diallyl sulfidu či disulfidu z cesnaku a eugenolu z klinčekov dokumentuje tab. I. Pri extrakcii spomenutých zlúčenín z cesnaku, ktoré sú zodpovedné za jeho špecifickú arómu, bol výťažok 75 %. Extrakcie podporené ultrazvukom trvali do 45 min pri teplote 25–30 °C.

### 3.1.3. Extrakcia tekutinou v nadkritickom stave

Extrakcia tekutinou v nadkritickom stave (supercritical fluid extraction, SFE) v porovnaní s inými extrakčnými metódami nepoužíva toxické organické rozpúšťadlá, prípadne len malé množstvo prídavného organického modifikátora. Ako extrakčné tekutiny možno využiť oxid uhličitý (kritické parametre 31,0 °C, 7,37 MPa), chlór difluórmétán (kritické parametre 96 °C, 4,94 MPa), oxid dusný (kritické parametre 36,4 °C, 7,25 MPa). Využitie chlór difluórmétánu a oxidu dusného sa v poslednom období minimalizuje pre ich nepriaznivé vlastnosti (chlór difluórmétán má nepriaznivý účinok na ozónovú vrstvu, oxid dusný vytvára výbušnú zmes)<sup>24</sup>. Účinnosť extrakcie sa zvyšuje pridaním modifikátora k nadkritickej tekutine z dôvodu zvýšenia rozpustnosti cieľových analytov (najmä pri vysoko polárnych látkach). Napríklad v prípade extrakcie izo-pinokamfénu a pinokamfénu<sup>25</sup> bol použitý prídavok modifikátora, metanolu, k extrakčnému činidlu CO<sub>2</sub>. Obsah modifikátora (napr. metanol, etanol, etyl-acetát a iné) je väčšinou v rozsahu 1–15 %, avšak závisí aj od extrakčných podmienok, typu matrice, typu rozpustenej látky a typu modifikátora. Tab. I dokumentuje príklady použitia SFE pre izoláciu zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami. Pomocou SFE sa získali esenciálne oleje z kávovníka a z yzopu lekár-



Obr. 1. Spojenie ultrazvukovej technológie s inými technológiami využiteľná na spracovanie vzoriek: (a) UAE pomocou ultrazvukovej sondy, (b) ultrazvuková mikrovlnná extrakcia, (c) UAE kombinovaná s vodným kúpeľom s konštantnou teplotou, (d) ultrazvukové sušenie vo fluidnej vrstve (upravený podľa<sup>23</sup>)

Tabuľka I

Vybrané zlúčeniny s organoleptickými vlastnosťami získané z prírodného materiálu pomocou pokročilých extrakčných techník

Technika	Rastlinný zdroj	Zlúčeniny s organoleptickými vlastnosťami	Extrakčné činidlo	Parametre	Výťažok [%]	Lit.
MAE	citrónovník pomarančový (kôra) ( <i>Citrus sinensis</i> )	limonén, citral, dekanal, geranial, eugenol, $\beta$ -pinén, dodekanal	[C2mim]OAc, [C4mim]Cl	$P = 540 \text{ W}$ $t = 20 \text{ min}$	2,1	20
MAE	gafrovník lekárskeý ( <i>Cinnamomum camphora</i> )	metyleugenol, safrol, eukalyptol, limonén, borneol	bez rozpúšťadiel	$P = 420 \text{ W}$ $t = 22 \text{ min}$	8,03	19
MAE	vavrín pravý ( <i>Laurus nobilis</i> )	eukalyptol, linalool, terpinén-4-ol	H <sub>2</sub> O	$P = 540 \text{ W}$ $t = 30 \text{ min}$	–	21
UAE	cesnak kuchynský ( <i>Allium sativum</i> )	dimetyl disulfid, diallyl sulfid, diallyl disulfid, 1,4-dimetyl-tetrasulfid	hexán	$f = 35 \text{ kHz}$ $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ $t = 30 \text{ min}$ $V_{\text{rozp}} = 50 \text{ ml}$	75	42
UAE	klinčekovec voňavý ( <i>Eugenia caryophyllus</i> )	eugenol, $\alpha$ -kopaén, $\beta$ -karyofylén, $\alpha$ -humulén, acetát eugenolu	etanol:H <sub>2</sub> O 50:50 (v/v)	$f = 25 \text{ kHz}$ $T = 28\text{--}30 \text{ }^\circ\text{C}$ $t = 45 \text{ min}$ $V_{\text{rozp}} = 20 \text{ l}$	–	43
SFE	kávovník arabský ( <i>Coffea arabica</i> )	2-etyl-3-metylpyrazín, difurfuryléter, 5-metyl-2-furán-karboxaldehyd	CO <sub>2</sub>	$p = 15\text{--}30 \text{ MPa}$ $T = 40\text{--}60 \text{ }^\circ\text{C}$ $t = 120 \text{ min}$	< 30	44
SFE	yzop lekárskeý ( <i>Hyssopus officinalis</i> )	izo-pinokamfén, pinokamfén	CO <sub>2</sub> / metanol 94:6 (v/v)	$p = 10\text{--}35 \text{ MPa}$ $T = 35\text{--}75 \text{ }^\circ\text{C}$	13,6–17,1	25
PLE	kávovník arabský ( <i>Coffea arabica</i> )	pyrazíny	H <sub>2</sub> O	$p = 3,45\text{--}17,24 \text{ MPa}$ $T = 40\text{--}200 \text{ }^\circ\text{C}$ $t = 2\text{--}18 \text{ min}$	–	30
PLE	kurkuma pravá ( <i>Curcuma longa</i> L.)	kurkumín	H <sub>2</sub> O (pH 1,6)	$p = 5 \text{ MPa}$ $T = 90\text{--}250 \text{ }^\circ\text{C}$ $t = 60 \text{ min}$	18	31
PLE	brazílskeý hroznoý strom ( <i>Myrciaria cauliflora</i> )	antokyány	cholín chlorid / propylén glykol 1:2 mol/mol	$p = 10 \text{ MPa}$ $T = 60, 90, 120 \text{ }^\circ\text{C}$ $t = 12 \text{ min}$	45	32
PEF	hnedeý makroriasa ( <i>Alaria esculenta</i> )	polyfenoly	–	$E = 7,5 \text{ kV cm}^{-1}$ $t = 0,96 \text{ } \mu\text{s}$ $N = 720$ $f = 1,2 \text{ Hz}$	1,0	33
PEF	sinice ( <i>Arthrospira Platensis</i> )	fykocyanín	–	$E = 40 \text{ kV cm}^{-1}$ $U = 28, 56 \text{ a } 112 \text{ J ml}^{-1}$ $f = 2\text{--}6 \text{ Hz}$	8,5	34
PEF	ľuľok zemiakový ( <i>Solanum tuberosum</i> L.)	antokyaníny	–	$E = 5 \text{ kV cm}^{-1}$ $U = 135 \text{ J ml}^{-1}$ $f = 1 \text{ Hz}$	–	35
EAE	nechtík lekárskeý ( <i>Calendula officinalis</i> )	karotenoidy	–	viskozým, pektinex, neutráza, koroláza	7,6	41
EAE	vanilka voňavá ( <i>Vanilla fragrans</i> )	vanilín	–	$\beta$ -glukozidáza a pektináza	14–21	40

[C2mim]OAc – 1-etyl-3-metylimidazoliumacetát, [C4mim]Cl – 1-butyl-3-metylimidazoliumchlorid,  $A$  – amplitúda,  $T$  – teplota,  $t$  – čas,  $p$  – tlak,  $E$  – intenzita elektrického poľa,  $N$  – počet impulzov,  $f$  – frekvencia,  $U$  – špecifický energetický príkon,  $P$  – mikrovlnný výkon

skeho obsahujúce zlúčeniny ako sú 2-etyl-3-metylpyrazín a piokamfén. Výťažky nepresahovali 30 %. Hlavným dôvodom použitia SFE je ekologickosť extrakčného činidla ( $\text{CO}_2$ ) a uskutočnenie pri nižších a stabilných teplotách, čo je žiadané napr. pri získavaní látok, ktoré pri vysokých teplotách degradujú prípadne aj na škodlivé látky, no vyššie náklady na vybavenie sú čiastočným negatívom. Táto technika je vhodná pre získavanie cenných prírodných zlúčenín, napr. lipofilných zlúčenín, ako sú éterické oleje, tokoferoly, oleje bohaté na polynenasýtené mastné kyseliny, steroly, skvalén – zložky, ktoré sa môžu používať ako ingrediencie v potravinárskom priemysle, kozmetike a farmaceutikách<sup>26</sup>.

### 3.1.4. Extrakcia rozpúšťadlom pri zvýšenom tlaku

Extrakcia rozpúšťadlom pri zvýšenom tlaku (pressurized liquid extraction, PLE, accelerated solvent extraction, ASE) využíva zvýšenú teplotu (do 300 °C) a tlak (3–20 MPa) na extrakciu cieľových zlúčenín. Za týchto podmienok zostáva rozpúšťadlo v kvapalnom stave aj pri teplotách nad bodom varu, čím sa dosiahne jeho lepší prienik do štruktúry či tkanív, čo vplyva na zvýšenie účinnosti extrakcie<sup>27</sup>. Zvýšená teplota tiež zvyšuje rozpustnosť a rýchlosť difúzie látok. Zmenou teploty a tlaku možno dosiahnuť efektívnu extrakciu aj pomocou GRAS rozpúšťadiel (generally recognized as safe – všeobecne uznávaných ako bezpečné), ako je voda alebo etanol (napr. dielektrická konštanta ( $\epsilon$ ) vody pri 300 °C a tlaku 22,99 MPa má hodnotu 21, čo je porovnateľné s etanolom ( $\epsilon = 25$ ) pri 25 °C)<sup>28</sup>.

Podmienky PLE je potrebné prispôsobiť vlastnostiam cieľových analytov. Pre extrakciu látok s organoleptickými vlastnosťami je možné uskutočniť extrakciu vo viacerých sekvenčných krokoch. Prvý krok sa väčšinou realizuje pri nižšej teplote (napr. 40 °C) a následný pri zvýšenej teplote, napr. 100 °C. Tento proces môže poskytnúť extrakty rôznych skupín látok, napr. extrakt obohatený o antokyány získaný v prvom extrakčnom kroku a extrakt obohatený o iné fenolové zlúčeniny (druhý krok). Nižšia teplota v prvom kroku zabráni tepelnej degradácii antokyánov pred druhým krokom<sup>29</sup>.

V prípade PLE pyrazínov z pomletých kávových zŕn Arabica (tab. I) sa využili vysoké extrakčné teploty (nad 150 °C), keďže vhodným extrakčným rozpúšťadlom bola voda<sup>30</sup>. Ukázalo sa, že vysoké teploty nie vždy negatívne ovplyvňujú výťažok tepelne nestálych prírodných bioaktívnych zlúčenín. Pri extrakcii vodou pri nadkritických podmienkach zvýšenie teploty (100–374 °C) znižuje polaritu vody a zvyšuje rozpustnosť cieľových zložiek, a tým aj účinnosť extrakcie. Na zlepšenie rozpustnosti analytov vo vode je vhodné upraviť pH. Jedným z príkladov je extrakcia kurkumínu z kurkumu (*Curcuma longa* L.)<sup>31</sup>. Kurkumín má veľmi obmedzenú rozpustnosť vo vode (0,6  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ), avšak extrakciou vodou s pH 1,6 (úprava pH pomocou 0,1 mol  $\text{l}^{-1}$  HCl) pri tlaku 5 MPa a teplote 197 °C sa dosiahlo významné zvýšenie rozpustnosti kurkumínu (62  $\text{mg ml}^{-1}$ ), pravdepodobne v dôsledku jeho disociácie ( $\text{pK}_a = 7,8$ ). Pre PLE sa používajú aj hlboko eutektické

rozpúšťadlá. Zmesi zložené z cholin chloridu, propylén glykolu a kyseliny jablčnej sa testovali pre izolovanie antokyány z bobúľ Jaboticaba, pričom sa dosiahli výťažky 45 % (cit.<sup>32</sup>).

### 3.1.5. Extrakcia podporená pulzovým elektrickým poľom

Energia pulzového elektrického poľa (pulsed electric field, PEF) bola využitá pri extrakcii látok s organoleptickými vlastnosťami zo širokej škály prírodných materiálov vrátane rias, kvasníc a iných mikroorganizmov<sup>33,34</sup>, ovocia či zeleniny<sup>35</sup>.

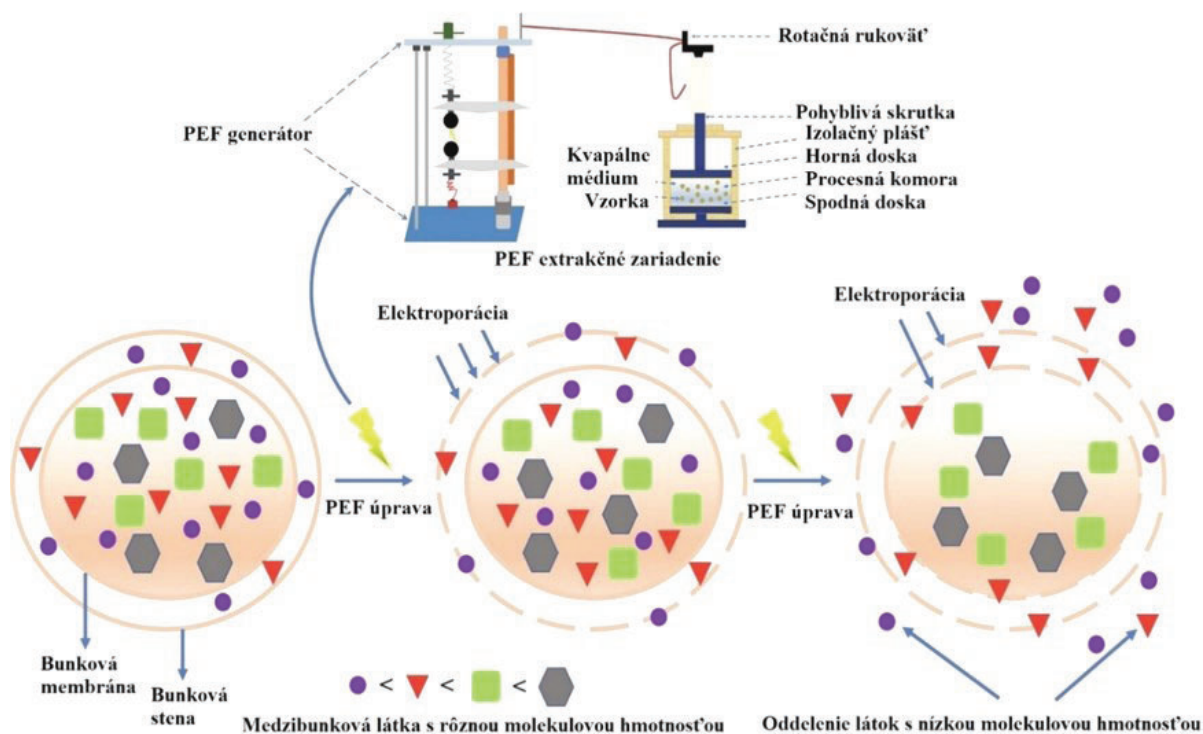
Techniky podporované PEF sú založené na využití elektroporácie – vytváraní pórov v bunkových membránach vplyvom elektrických impulzov s krátkym trvaním (0,96–100  $\mu\text{s}$ ) a napätím do 20 kV. Zvýšenie elektroporácie a permeability bunkovej steny má za následok zvýšenie účinnosti extrakcie (obr. 2). Účinnosť PEF závisí od parametrov, ako je intenzita elektrického poľa (0,5–40  $\text{kV cm}^{-1}$ ), počet impulzov (1–6000), trvanie alebo šírka impulzu (0,96–100  $\mu\text{s}$ ), frekvencia impulzov (1–20 Hz). Štúdie ukázali, že so zvýšením intenzity elektrického poľa sa výrazne zvýšil výťažok extrakcie, čo môže byť spôsobené vyšším príkonom energie, ktorý uľahčuje pretrhnutie bunkovej membrány<sup>36</sup>.

Príklady použitia PEF na získanie polyfenolov z hnedej makroriasy *Alaria esculenta* a fykocyanínu zo sinice *Arthrospira Platensis* dokumentuje tab. I. Výťažky látok s organoleptickými vlastnosťami predstavovali maximálne 9 % a boli porovnateľné s výťažkami extrakcie, pri ktorej sa na rozrušenie bunkovej membrány použilo miešanie s guľôčkami<sup>34</sup>.

### 3.1.6. Enzýmami podporená extrakcia

Enzýmami podporená extrakcia (enzyme-assisted extraction, EAE) je založená na schopnosti určitých enzýmov degradovať alebo narušovať bunkové steny, aby sa umožnilo uvoľnenie cieľových zlúčenín. Enzýmy sú vhodné aj ako katalyzátory pri extrakcii a môžu znížiť používanie konvenčných rozpúšťadiel. Zmes enzýmov môže účinne hydrolyzovať celulóзовú štruktúru bunkovej steny rastlín a v konečnom dôsledku zvýšiť získané množstvo viazaných aj voľných zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami<sup>38</sup>. EAE má oproti konvenčným extrakčným metódam niekoľko výhod: mierne reakčné podmienky (uskutočňuje sa pri teplotách cca do 80 °C), krátky čas (niekoľko minút; závisí od typu enzýmu), možnosť využitia celého rastlinného materiálu, proces vyžaduje menší počet krokov (väčšinou jeden). Substrátová špecifickosť, ktorá vedie k extrakcii zlúčenín s vysokou čistotou, prispieva k zníženiu výrobných nákladov v porovnaní s klasickými extrakčnými a separačnými metódami<sup>39</sup>.

Enzýmy, ako napr. celulóza,  $\alpha$ -amyláza,  $\beta$ -glukozidáza, proteáza, xylanáza alebo pektináza, sa použili na extrakciu vanilínu zo zelených vanilkových strukov s výťažkom 21 % (cit.<sup>40</sup>) a karotenoidov z nechtíka lekárskoho<sup>41</sup> s výťažkom do 7,6 % (tab. I).

Obr. 2. Schematický diagram extrakcie pulzovým elektrickým poľom (upravený podľa<sup>37</sup>)

#### 4. Záver a vyhlídky do budúcnosti

Práca predstavuje stručné zhrnutie techník používaných na izoláciu zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami z rozličných prírodných materiálov. V súčasnosti sa zlúčeniny získavajú nie len extrakciou z esenciálnych olejov, rastlín, no taktiež z vedľajších potravinárskych produktov a odpadov, a aj pomocou mikrobiálnych a fermentačných procesov.

Potreba znížiť spotrebu rozpúšťadla, skrátiť čas a náklady na spracovanie vzorky extrakciou, používať ekologické rozpúšťadlá, získať reprodukovateľné výsledky a dosiahnuť vysokú účinnosť extrakcie sú hlavnými dôvodmi hľadania nových či modifikácie už existujúcich metód a postupov. Implementáciou mikrovlnného žiarenia, ultrazvuku, pulzného elektrického poľa či enzýmov sa zlepšila účinnosť a skrátil čas extrakcie. Enzýmami podporená extrakcia a extrakcia pulzovým elektrickým poľom sú perspektívne do budúcnosti, pretože ide o netepelné vysokoúčinné technológie. Vysoké extrakčné účinnosti sa taktiež dosahujú použitím iónových kvapalín, hlboko eutektických rozpúšťadiel a tekutín v nadkritickom stave, čo umožňuje eliminovať použitie toxických organických rozpúšťadiel.

Použitie danej techniky do určitej miery súvisí s maticou, v ktorej sa cieľová extrahovaná látka nachádza. Je potrebné vybrať takú techniku, pri ktorej sa čo najviac rozruší štruktúra matrice/tkanív rastlinného materiálu a uvoľní sa cieľový analyt. S vlastnosťami a štruktúrou extrahovanej látky súvisia podmienky extrakcie – teplota (tepelne stabilné či nestabilné zlúčeniny), výber vhodného extrakčného rozpúšťadla (miešateľnosť, rozpustnosť, polarita).

Bez ohľadu na extrakčnú techniku, na lepšie pochopenie správania prenosu hmoty zlúčenín sa čoraz častejšie využíva matematické modelovanie, v ktorom možno predpovedať správanie rozpustených látok v sub- a superkritických médiách počas extrakčných procesov. Navyše, ekonomická analýza a hodnotenie ekologickosti nových procesov sú užitočné, najmä ak je cieľom zväčšenie (scale-up) techník pre účely získavania látok. Vo väčšine prípadov kombinácia pokročilých extrakčných techník (napr. UAE s MAE) poskytuje účinnejšiu extrakciu látok zo zložitých matric. V niektorých prípadoch tiež znižujú celkový počet krokov extrakčného postupu, eliminujú ďalšie procesné kroky alebo aj znižujú energetickú náročnosť. Pre priemyselné uplatnenie týchto techník je vhodná ich automatizácia, online prepojenie a prípadne aj online spojenie

s metódami stanovenia cieľových látok, napr. chromatografickými metódami. Toto môže zvýšiť efektivitu práce, eliminovať chyby a vyriešiť problémy pre ciele uplatnenia.

*Táto práca bola podporená Vedeckou grantovou agentúrou MŠVVaŠ SR a SAV na základe projektu VEGA (projekt č. 1/0159/20) a Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-20-0317.*

## LITERATÚRA

- Sústriková A., Šalamon I.: *Hortic. Sci. (Prague, Czech Repub.)* 31, 31 (2004).
- Duffy I. J.: *Chemicals by Enzymatic and Microbial Processes: Recent Advances (Chemical Technology Review)*. Noyes Data Corp, New Jersey 1980.
- Van der Scharft P., v knihe: *Flavour Development, Analysis and Perception in Food and Beverages*, str. 235. Woodhead Publishing, Reading 2015.
- Lapčík O., Uher M., Moravcová J., Čopíková J., Drašar P.: *Chem. Listy* 101, 44 (2007).
- Lapčík O., Wimmer Z., Opletal L., Moravcová J., Čopíková J., Drašar P.: *Chem. Listy* 109, 488 (2015).
- Lapčík O., Wimmer Z., Opletal L., Moravcová J., Čopíková J., Drašar P., Cahlíková L.: *Chem. Listy* 105, 761 (2011).
- Lapčík O., Uher M., Moravcová J., Čopíková J., Opletal L., Drašar P.: *Chem. Listy* 101, 895 (2007).
- Running C. A., Craig B. A., Mattes R. D.: *Chem. Senses* 40, 507 (2015).
- Gaudette J. N.: *Encycl. Food Chem.* 1, 101 (2019).
- Zhou L., Yu C., Cheng B., Wan H., Luo L., Pan H., Zhang Q.: *Ind. Crops Prod.* 155, 112735 (2020).
- Rowe D. J., v knihe: *Natural Food Additives, Ingredients and Flavours*, str. 212. Woodhead Publishing, Cambridge 2012.
- Priego-Capote F., v knihe: *Analytical Sample Preparation With Nano- and Other High-Performance Materials*, str. 111. Elsevier, Córdoba 2021.
- Li Y., Li S., Lin S., Zhang J., Zhao C., Li H.: *Molecules* 22, 1481 (2017).
- Wei E., Yang R., Zhao H., Wang P., Zhao S., Zhai W., Zhang Y., Zhou H.: *Int. J. Biol. Macromol.* 123, 280 (2019).
- Chandrasekar V., San Martín-González M.F., Hirst P., Ballard T. S.: *J. Food Process Eng.* 38, 571 (2015).
- Thirugnanasambandham K., Sivakuma V.: *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* 16, 41 (2017).
- Farzaneh V., Carvalho I. S.: *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants* 6, 92 (2017).
- Elez Garofulić I., Dragović-Uzelac V., Režek Jambrak A., Jukić M.: *J. Food Eng.* 117, 437 (2013).
- Liu Z., Li H., Zhu Z., Huang D., Qi Y., Ma C., Zou Z., Ni H.: *LWT - Food Sci. Technol.* 153, 112549 (2022).
- Franco-Vega A., López-Malo A., Palou E., Ramírez-Corona N.: *Chem. Eng. Process.* 160, 108277 (2021).
- Franco-Vega A., Ramírez-Corona N., López-Malo A., Palou E.: *J. Food Eng.* 247, 1 (2019).
- Li S., Zhang R., Lei D., Huang Y., Cheng S., Zhu Z., Wu Z., Cravotto G.: *Trends Food Sci. Technol.* 109, 1 (2021).
- Yusoff I. M., Taher Z. M., Rahmat Z., Chua L. S.: *Food Res. Int.* 157, 111268 (2022).
- Vinitha U. G., Sathasivam R., Muthuraman M. S., Park S. U.: *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 118, 101815 (2022).
- Kazazi H., Rezaei K., Ghotb-Sharif S. J., Emam-Djomeh Z., Yamini Y.: *Food Chem.* 105, 805 (2007).
- Mackela I., Kraujalis P., Baranauskienė R., Venskutonis P. R.: *J. Supercrit. Fluids* 104, 291 (2015).
- Selvamuthukumaran M., Shi J.: *Food Qual. Saf.* 1, 61 (2017).
- Pimentel-Moral S., Borrás-Linares I., Lozano-Sánchez J., Alañón M.E., Arráez-Román D., Segura-Carretero A.: *Food Res. Int.* 137, 109466 (2020).
- Alvarez-Rivera G., Bueno M., Ballesteros-Vivas D., Mendiola J. A., Ibanez E.: *Liquid-Phase Extraction*. Elsevier, Cambridge 2020.
- Xu J. L., Kim T. J., Kim J. K.: *Food Chem.* 281, 261 (2019).
- Euterpio M. A., Cavaliere C., Capriotti A. L., Crescenzi C.: *Anal. Bioanal. Chem.* 401, 2977 (2011).
- Benvenuti L., Ferreira Zielinski A. A., Salvador Ferreira S. R.: *Food Chem.: X* 13, 100236 (2022).
- Einarsdóttir R., Þórarinsdóttir K. A., Aðalbjörnsson B. V., Guðmundsson M., Marteinsdóttir G., Kristbergsson K.: *J. Appl. Phycol.* 34, 597 (2022).
- Jaeschke D. P., Mercali G. D., Marczak L. D. F., Müller G., Frey W., Gusbeth C.: *Bioresour. Technol.* 283, 207 (2019).
- Puértolas E., Cregeñán O., Luengo E., Alvarez I., Raso J.: *Food Chem.* 136, 1330, (2013).
- Naliyadhara N., Kumar A., Girisa S., Daimary U. D., Hegde M., Kunnumakkara A. B.: *Trends Food Sci. Technol.* 122, 238 (2022).
- Jiang Y., Xing M., Kang Q., Sun J., Zeng X., Gao W., Li H., Gao Y., Li A.: *Food Chem.* 383, 132304 (2022).
- Shen D., Kou X., Wu C., Fan G., Li T., Dou J., Wang H., Zhu J.: *Food Chem.* 357, 129747 (2021).
- Gligor O., Mocan A., Moldovan C., Locatelli M., Crişan G., Ferreira I. C. F. R.: *Trends Food Sci. Technol.* 88, 302 (2019).
- Ruiz-Terán F., Perez-Amador I., López-Munguía A.: *J. Agric. Food Chem.* 49, 5207 (2001).
- Barzana E., Rubio D., Santamaria R. I., Garcia-Correa O., Garcia F., Ridaura Sanz V. E., López-Munguía A.: *J. Agric. Food Chem.* 50, 4491 (2002).
- Kimbaris A. C., Siatis N. G., Daferera D. J., Tarantilis P. A., Pappas C. S., Polissiou M. G.: *Ultrason. Sonochem.* 13, 54 (2006).
- Alexandru L., Binello A., Chemat F., Cravotto G., Giordana L.: *Innovative Food Sci. Emerging Technol.* 20, 167 (2013).

44. Hurtado-Benavides A. M., Dorado D., del Pilar Sánchez-Camargo A.: *J. Supercrit. Fluids* 113, 44 (2016).

**V. Výbohová<sup>a,b</sup> and K. Hroboňová<sup>a</sup>** (<sup>a</sup> *Slovak University of Technology in Bratislava, Faculty of Chemical and Food Technology, Institute of Analytical Chemistry, Bratislava*, <sup>b</sup> *Axxence Slovakia s.r.o., Bratislava, Slovakia*): **Isolation of Natural Compounds with Organoleptic Properties Using Selected Advanced Extraction Techniques**

This review presents an overview of various advanced solid–liquid extraction techniques used for extraction of compounds with organoleptic properties from natural sources. These compounds are important additives to food, cosmetic, and pharmaceutical products. The most frequently used techniques are ultrasound assisted extrac-

tion and microwave assisted one, but there are other efficient techniques, such as pressurized liquid extraction, supercritical fluid extraction, pulsed electric field and enzyme assisted extraction. These techniques reduce or eliminate the volume of toxic solvents required for extraction, decrease the extraction time and mostly are more energy efficient. Low energy extraction conditions (pulsed electric field and enzyme assisted) can better preserve the compounds sensitive to heat, pH, and light.

Keywords: organoleptic properties, natural materials, solid-liquid extraction

#### *Acknowledgements*

*This work was supported by grants from the Scientific Grant Agency of the Slovak Republic (Project VEGA Nr. 1/0159/20) and by the Slovak Research and Development Agency under the contract number APVV-20-0317.*

## SYNTÉZA A ELEKTROCHEMICKÉ VLASTNOSTI ELEKTROLYTŮ NA BÁZI FOSFONIOVÝCH, SULFONIOVÝCH A IMIDAZOLIOVÝCH IONTOVÝCH KAPALIN PRO POUŽITÍ V LITHIUM-IONTOVÝCH BATERIÍCH

BARBORA GALAJDOVÁ, JAN ŽITKA, LUKÁŠ PAVLOVEC, OLGA TRHLÍKOVÁ, JANA KREDATUSOVÁ  
a RAFAL KONEFAL

Ústav makromolekulární chemie Akademie věd České republiky, v.v.i., Heyrovského nám. 2, 162 00 Praha 6, Česká republika  
gbarbora@seznam.cz

Došlo 24.1.23, přijato 30.3.23.

Tato práce popisuje syntézu a charakterizaci tří iontových kapalin (IL) s imidazolovými, fosfoniovými nebo sulfoniovými kationty. Tyto IL byly použity jako prekurzor pro přípravu elektrolytů přidáním různých typů lithných solí. Tepelné a elektrochemické vlastnosti elektrolytů byly studovány za účelem posouzení jejich použitelnosti v lithium-iontových bateriích (LIB). Ethylester kyseliny ethylmethylimidazolium fosfonové  $[\text{EtMeIm}]^+[\text{EtPITE}]^-$  s přídavkem Li solí vykazoval velmi nízkou vodivost přibližně  $0,02 \text{ mS cm}^{-1}$  a poměrně úzké okno elektrochemické stability 4,3 V. Ze všech studovaných IL vykazoval tento IL na bázi imidazolu nejhorší tepelné vlastnosti jak v čistém stavu, tak s přídavkem  $\text{Li}^+$  soli. Proto je použití tohoto IL jako elektrolytu pro LIB nepravděpodobné. Methyltributylfosfonium bis(trifluormethylsulfonyl) imid  $[\text{P}_{1444}]^+[\text{TFSI}]^-$  s Li solemi měl již výrazně vyšší vodivost  $0,4\text{--}0,6 \text{ mS cm}^{-1}$  a vykazoval velmi široké okno elektrochemické stability 7 V. TGA křivky  $[\text{P}_{1444}]^+[\text{TFSI}]^-$  ukazují vynikající tepelnou stabilitu až do  $300 \text{ }^\circ\text{C}$ . DSC měření ukázala semikrystalické chování  $[\text{P}_{1444}]^+[\text{TFSI}]^-$ ; tato nepříznivá skutečnost byla překonána přídavkem  $\text{Li}^+$  soli. Potenciál tohoto IL je pro použití v LIB velmi vysoký. Při pokojové teplotě je trimethylsulfonium bis(trifluormethyl sulfonyl) imid  $[\text{S}_{111}]^+[\text{TFSI}]^-$  pevný krystalický materiál, proto byl smíchán s  $[\text{P}_{1444}]^+[\text{TFSI}]^-$ . Výsledná směs  $[\text{P}_{1444}]^+[\text{S}_{111}]^+[\text{TFSI}]^-$  dosáhla ve srovnání s ostatními připravenými IL nejvyšších vodivostí  $0,6\text{--}1,0 \text{ mS cm}^{-1}$ . Zajímavá je také elektrochemická stabilita, jejíž hodnota ESW je 5,5 V. Tepelné vlastnosti jsou srovnatelné s vlastnostmi  $[\text{P}_{1444}]^+[\text{TFSI}]^-$ , nevykazuje však semikrystalické chování. Tato směs je slibným elektrolytem pro lithium-iontové baterie.

Klíčová slova: iontové kapaliny, elektrolyt, Li-ion baterie, sulfonium, fosfonium

### Úvod

Lithium-iontové baterie (LIB) jsou v posledních letech v hledáčku mnoha vědců a vědeckých skupin, protože se ukázaly jako vhodný systém pro skladování „zelené“ energie. Jejich rozsah použití je velmi široký, našly uplatnění jak ve velkých elektrických vozidlech (např. autobusech, osobních autech), tak i v menších (např. elektroko-

lech, golfových vozících, vysokozdvíhových vozících); dále se využívají v elektrickém nářadí (např. sekačkách na trávu, elektrických pilách, elektrických vrtačkách), hračkách na dálkové ovládání, ale také v zařízeních pro ukládání větrné a solární energie; najdeme je také v zařízeních běžné denní potřeby, jako jsou notebooky, mobilní telefony, tablety aj.

#### Tabulka I

Základní součásti Li-ion baterie s jejich funkcemi

Komponenty	Operace	Materiál
Katoda	Během vybíjení baterie dochází ke vstupu lithiových iontů do katody, tyto ionty katodu zase opouštějí, jakmile dojde k nabíjení baterie.	Prášek oxidu lithného
Anoda	Během vybíjecího cyklu lithiové ionty opouštějí anodu a opět se do ní vrací během nabíjecího cyklu.	Grafitový prášek
Elektrolyt	Elektrolyt umožňuje transport iontů lithia mezi katodou a anodou, nikoliv však transport elektronů.	Lithné soli a organická rozpouštědla
Separátor	Separátor zabraňuje zkratu mezi katodou a anodou, tím že propouští skrze póry pouze ionty lithia.	Mikroporézní membrány

Tabulka II  
Popis elektrochemických reakcí v Li-iontové baterii

Elektrochemické reakce	
nabíjení	
Katoda: $\text{LiMO}_2 \rightleftharpoons \text{Li}_{1-x}\text{MO}_2 + x\text{Li}^+ + x\text{e}^-$	
vybíjení	
nabíjení	
Anoda: $\text{C} + x\text{Li}^+ + x\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Li}_x\text{C}$	
vybíjení	
nabíjení	
Přehled: $\text{LiMO}_2 + \text{C} \rightleftharpoons \text{Li}_x\text{C} + \text{Li}_{1-x}\text{MO}_2$	
vybíjení	

M = kov

Jako většina běžných baterií se také LIB skládají ze čtyř základních součástí: katoda, anoda, elektrolyt a separátor. V tab. I jsou uvedeny základní komponenty s jejich funkcemi a materiálem, ze kterého jsou běžně zhotovovány<sup>1</sup>.

Během nabíjení baterie uvolňuje lithiová kladná elektroda část svých iontů lithia, které se pohybují elektrolytem, aby dosáhly záporné elektrody a tam zůstaly. Současně s tím elektrony odcházejí z katody na anodu vnějším obvodem, aby byla zachována celková neutralita. Baterie během tohoto procesu ukládá energii<sup>2</sup>. Princip probíhající elektrochemických reakcí je popsán v tab. II (cit.<sup>1</sup>).

Původně byly záporné elektrody (anody) tvořeny kovem lithia, ale jelikož docházelo k tvorbě hustého povrchového filmu, který způsoboval nedostatečnou pasivaci, tvorbu lithiových dendritů a vyvolával bezpečnostní problémy, stejně jako obrovskou spotřebu lithia, bylo žádoucí zkoumání nových materiálů<sup>3</sup>. V současné době se používá především grafit, který má nízkou měrnou kapacitu a může uspokojit poptávku trhu po vysoce výkonných lithiových bateriích. Proto byl proveden rozsáhlý výzkum s cílem nalézt materiál záporné elektrody. Srovnávací studie pro vhodný anodový materiál jsou shrnuty a publikovány, např.<sup>4,5</sup>.

Aby bylo možné zajistit vysokou energetickou kapacitu, musí být kladná elektroda (katoda) schopna začlenit (interkalovat) velké množství lithia. Kromě toho musí být materiály katody takové, aby umožnily reverzibilní výměnu lithných iontů s minimálními strukturálními změnami během procesu nabíjení/vybíjení, aby tím byla zajištěna jejich dlouhá životnost. Další požadovanou vlastností je vysoká coulombická účinnost, nerozpustnost v elektrolytu, vysoká difuzivita lithných iontů a dobrá elektronová vodivost pro dosažení vysoké energetické účinnosti. Měly by být také připravovány z levných surovin nízkonákladovou syntézou. Běžně používané katodové materiály jsou Lithium Cobalt Oxide (LCO), Lithium Manganese Oxide (LMO), Lithium Iron Phosphate (LFP) a Lithium (nikl-mangan-kobaltový) oxid (NMC)<sup>6</sup>.

Neméně důležitou základní složkou je elektrolyt, který umožňuje migraci iontů lithia. Výběr elektrolytu má

významný vliv na bezpečnost a tepelnou stabilitu baterie. Organické elektrolyty na bázi kombinace lineárních a cyklických alkytkarbonátů jsou známé a běžně používané pro široký rozsah jejich provozního napětí. Na druhou stranu jsou velmi těkavé a hořlavé, což může představovat vážná bezpečnostní rizika. Hlavním problémem je jejich nízký bod vzplanutí a bod varu. Na toto téma bylo provedeno několik studií<sup>7–10</sup>. Shrnutí bezpečnostních parametrů nejběžněji používaných rozpouštědel a elektrolytů je uvedeno v práci<sup>10</sup>. Měřenými složkami byly dimethylkarbonát (DMC), ethylenkarbonát (EC), diethylkarbonát (DEC), propylenkarbonát (PC), 1-ethyl-3-methylimidazolium-bis(trifluormethansulfonyl)imid (EMImNTf<sub>2</sub>) a 1-ethyl-3-methylimidazolium-tetrafluorborát (EMImBF<sub>4</sub>) spolu se solemi lithia, jako je tetrafluorborát lithný (LiBF<sub>4</sub>) a hexafluorofosfát lithný (LiPF<sub>6</sub>).

Jedním z hlavních cílů v oblasti LIB je proto vývoj nových, bezpečnějších elektrolytů<sup>11–13</sup>. Iontové kapaliny (IK) jsou možnými kandidáty pro náhradu komerčních elektrolytů na bázi karbonátů<sup>14–17</sup>. Iontové kapaliny jsou soli, které mají nízkou teplotu tání, a to pod 100 °C (cit.<sup>18</sup>). Obvykle mají vysokou chemickou a tepelnou stabilitu a extrémně nízký nebo nulový tlak par<sup>19</sup>. Díky těmto vlastnostem jsou iontové kapaliny, které jsou kapalné při pokojové teplotě (RTIL), vynikajícími kandidáty pro použití v široké řadě aplikací včetně elektrochemických zařízení, jako jsou LIB (cit.<sup>18</sup>). Mezi nejvíce studované IK patří sloučeniny na bázi dusíku, jimiž jsou imidazoliové, pyrrolidiniové a kvartérní amoniové soli<sup>20</sup>; o IK na bázi fosfonia je zájem nižší. Vlastnosti obou typů IK jsou srovnávány v několika publikacích<sup>18,21,22</sup>. Ještě menší pozornost byla věnována IK na bázi sulfonia, zejména kvůli nižší stabilitě sulfoniových solí ve srovnání s jejich imidazoliolovými analogy<sup>23</sup>.

Vzhledem k omezeným dosavadním znalostem v oblasti chování a elektrochemických vlastností sulfoniových IK jsme se rozhodli syntetizovat tři různé typy kationtů, [P<sub>1444</sub>]<sup>+</sup>, [EtMeIm]<sup>+</sup> a [S<sub>111</sub>]<sup>+</sup>, a porovnat jejich tepelné a elektrochemické vlastnosti; strukturní složení připravených elektrolytů je uvedeno v obr. 1. Další nezbytnou



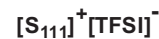
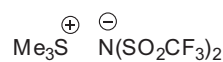
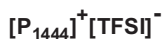
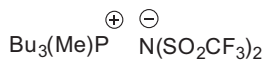
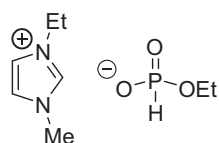
Tabulka III

Bezpečnostní parametry rozpouštědel a elektrolytů používaných v lithium-iontových bateriích: bod vzplanutí  $F_p$ , doba samozhášení SET, píky diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC)<sup>10</sup>

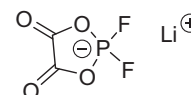
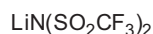
Rozpouštědlo / elektrolyt	$F_p$	SET	DSC pík [°C]		
	[°C]	[s]	1	2	3
DMC	23	*		160	160
1M LiPF <sub>6</sub> v DMC	23	*		97	97
1M LiBF <sub>4</sub> v DMC	23	17,7		100	
EC:DMC (50:50 hm.)	31	*	260	285	
1M LiPF <sub>6</sub> v EC:DMC (50:50 hm.)	23	51,5	80	190	268,5
DEC	28	*		202	
1M LiPF <sub>6</sub> v DEC	25	*		181	
1M LiBF <sub>4</sub> v DEC	29	*	150	185	
PC	58	*		290	
1M LiPF <sub>6</sub> v PC	65	55,7		219	235
1M LiBF <sub>4</sub> v PC	76	24,0		235	290
PC:EMImNTf <sub>2</sub> (60:40 hm.)	71	10,0		280	
1M LiPF <sub>6</sub> v PC:EMImNTf <sub>2</sub> (60:40 hm.)	78	8,0		235	270
1M LiBF <sub>4</sub> v PC:EMImNTf <sub>2</sub> (60:40 hm.)	91	4,0		280	
EC-PC (50:50 hm.)	72	*		270	
1M LiPF <sub>6</sub> v EC:PC (50:50 hm.)	69	10,0	230	260	280
1 M LiBF <sub>4</sub> v EC:PC (50:50 hm.)	91	66,0	85	245	290
EMImNTf <sub>2</sub>	215	0**		215	
EMImBF <sub>4</sub>	178	0**	140	185	
0,3 M LiPF <sub>6</sub> v EMImNTf <sub>2</sub>	121	0**		138	
0,3 M LiBF <sub>4</sub> v EMImNTf <sub>2</sub>	123	0**		255	
0,3 M LiPF <sub>6</sub> v EMImBF <sub>4</sub>	132	0**	130	210	262
0,3 M LiBF <sub>4</sub> v EMImBF <sub>4</sub>	118	0**	205	255	275

\* Systém zcela shořel, \*\* nehořlavý

(a)



(b)



Obr. 1. Struktura syntetizovaných iontových kapalin (a) a lithných solí (b)

podmínkou vodivosti elektrolytu na bázi IK je dostatečná koncentrace iontů lithia. Na druhou stranu, přidaná lithná sůl může zvýšit viskozitu, a tím snížit vodivost elektrolytu<sup>24</sup>. Z tohoto důvodu byl studován vliv přidání různých lithných solí na iontovou vodivost a elektrochemickou stabilitu připravených elektrolytů. Použité lithné soli byly tyto: lithium bis(trifluormethylsulfonyl)imid (LiTFSI), lithium bis(floursulfonyl)imid (LiFSI), hexafluorofosforečnan lithný (LiPF<sub>6</sub>) a difluor(oxalato)boritan lithný (LiDFOB). Tyto typy IK byly vybrány pro své jedinečné složení.

## Experimentální část

### Chemikálie

Tributylfosfin (97 %, Sigma Aldrich), methyljodid (99 %, Acros), ethyl-acetát (Lach Ner GR), *N*-methylimidazol (99 %, Merck), diethylfosfit (98 %, Sigma Aldrich), triethylfosfát (99,8 % Sigma Aldrich), diethylether (Lach Ner GR) a methanol (Lach Ner GR) byly použity tak, jak byly obdrženy. Lithium bis(trifluormethylsulfonyl)imid (99 %, abcr GmbH), lithium bis(floursulfonyl)imid (99 %, Provisco), lithium hexafluorofosfát (99,9 %, abcr GmbH) a lithium difluor(oxalato)-borát (pro baterie, Sigma Aldrich) byly sušeny při 110 °C ve vakuu po dobu 48 hodin. Demineralizovaná voda byla připravena jednotkou Millipore Elix 10 s měrným odporem 15 MΩ cm.

### Syntéza methyltributylfosfonium bis(trifluormethylsulfonyl)imidu [P<sub>1444</sub>]<sup>+</sup>[TFSI]<sup>-</sup>

Do 250ml tříhrdlé baňky opatřené teploměrem a zpětným chladičem byl k roztoku tributylfosfinu (61 g, 0,3 mol) v methanolu (150 ml) za stálého míchání přidán methyljodid (43 g, 0,3 mol). Míchání probíhalo po dobu 1 h při pokojové teplotě. Poté byla směs refluxována po dobu 3 hodin. Methanol byl oddestilován na rotační vakuové odparce a tak získán bílý pevný methyltributylfosfonium jodid [P<sub>1444</sub>]<sup>+</sup>[I]<sup>-</sup>. V dalším kroku byl 5% vodný roztok [P<sub>1444</sub>]<sup>+</sup>[I]<sup>-</sup> (omezená rozpustnost ve vodě) smíchán s 10% vodným roztokem LiTFSI (5% přebytek vzhledem k [P<sub>1444</sub>]<sup>+</sup>[I]<sup>-</sup>). Získaná mléčně zakalená směs byla zahřívána na cca 80–90 °C po dobu jedné hodiny, což vedlo k rozdělení na dvě fáze. Po ochlazení byla shromážděna olejovitá spodní vrstva obsahující iontovou kapalinu s bis(trifluormethylsulfonyl)imidovým aniontem, totiž [P<sub>1444</sub>]<sup>+</sup>[TFSI]<sup>-</sup>, rozpuštěna v ethyl-acetátu a 3× promyta destilovanou vodou (100 ml), aby se odstranily stopy jodidu. Výsledná iontová kapalina [P<sub>1444</sub>]<sup>+</sup>[TFSI]<sup>-</sup> byla sušena přes noc za sníženého tlaku při 80 °C, aby se odstranila zbytková voda a ethyl-acetát. Konečný výtěžek byl 84 %.

### Syntéza ethylmethylimidazolium diethylfosfitu [EtMeIm]<sup>+</sup>[EtPITE]<sup>-</sup>

Do 500ml tříhrdlé baňky s kulatým dnem vybavené magnetickým míchadlem a zpětným chladičem bylo přidáno 0,5 mol (41,05 g) *N*-methylimidazolu a 0,5 mol (69,05 g) diethylfosfitu. Reakční směs byla v dusíkové atmosféře pod zpětným chladičem zahřívána na teplotu 190 °C po dobu 2 hodin. Po uplynutí reakční doby se směs nechala pozvolna vychladnout na pokojovou teplotu. Takto byl získán viskózní nažloutlý produkt, který byl 3× promyt 250 ml diethyletheru a ponechán po dobu 24 hodin vyschnout volně na vzduchu. Následně byl produkt sušen ve vakuové sušárně při 80 °C po dobu 14 hodin. Konečný výtěžek byl 87 %.

### Syntéza trimethylsulfonium bis(trifluormethylsulfonyl)imidu [S<sub>111</sub>]<sup>+</sup>[TFSI]<sup>-</sup>

Trimethylsulfoniumjodid (100 g, 0,5 mol) byl rozpuštěn v 500 ml destilované vody v 1000ml reakční nádobě vybavené magnetickým míchadlem. Po úplném rozpuštění se přidal LiTFSI (172,25 g, 0,6 mol) rozpuštěný v 500 ml destilované vody. Reakční směs byla míchána 1 hodinu při 40 °C a poté ponechána vychladnout na pokojovou teplotu. Vznikly dvě fáze; olejovitá spodní vrstva obsahující iontovou kapalinu s bis(trifluormethylsulfonyl)imidovým aniontem [S<sub>111</sub>]<sup>+</sup>[TFSI]<sup>-</sup> byla oddělena a 3× promyta destilovanou vodou, aby se odstranily stopy jodidu. Výsledná iontová kapalina [S<sub>111</sub>]<sup>+</sup>[TFSI]<sup>-</sup> byla sušena přes noc ve vakuu při 80 °C, aby se odstranila zbytková voda. Konečný výtěžek byl 85 %. Připravená iontová kapalina po sušení ztuhla za vzniku bílých krystalů. Fyzikálně-chemické vlastnosti získaného krystalu jsou uvedeny v publikaci<sup>25</sup>. Vzhledem ke svému pevnému charakteru byl [S<sub>111</sub>]<sup>+</sup>[TFSI]<sup>-</sup> rozpuštěn v [P<sub>1444</sub>]<sup>+</sup>[TFSI]<sup>-</sup> v hmotnostním poměru 1:1, tzn. 10 g každé látky bylo přidáno do 50 ml kádinky s magnetickým míchadlem. Po 48 hodinách byla pozorována průhledná kapalina výsledné iontové kapaliny [P<sub>1444</sub>]<sup>+</sup>[S<sub>111</sub>]<sup>+</sup>[TFSI]<sup>-</sup>. Míchání bylo provedeno v rukavicovém boxu pod argonovou atmosférou.

### Příprava elektrolytů

Všechny elektrolyty byly připraveny stejným postupem. Do 15ml vialek vybavených magnetickým mícha-

### Tabulka IV

Molární hmotnosti použitých Li<sup>+</sup> solí v elektrolytu o objemu 0,01 l a koncentraci solí 0,3 mol l<sup>-1</sup>

Li <sup>+</sup> sůl	<i>M</i> [g mol <sup>-1</sup> ]
LiTFSI	287,09
LiFSI	187,07
LiDFOB	143,77
LiPF <sub>6</sub>	151,91

*M* = molární hmotnost Li<sup>+</sup> solí

dlem bylo přidáno 10 ml iontové kapaliny a ekvivalentní množství vysušených lithných solí, což odpovídalo 0,3M koncentraci (tab. IV). Elektrolyty byly připraveny v rukavcovém boxu pod argonovou atmosférou.

### NMR spektroskopie

Spektra  $^1\text{H}$  a  $^{31}\text{P}$  NMR byla zaznamenána spektrometrem Bruker Avance DPX 300 pracujícím při 300,1, resp. 121,5 MHz. Pro měření NMR spekter byly vzorky rozpuštěny v methanolu- $d_4$  nebo chloroformu- $d_1$  při teplotě 25 °C a napipetovány do 5mm NMR zkumavek. Podmínky pro  $^1\text{H}$  NMR měření spekter byly následující:  $\pi/2$  šířka pulzu 15,6  $\mu\text{s}$ , relaxační zpoždění 10 s, doba akvizice 4,95 s, 32 skenů.  $^{31}\text{P}$  NMR bylo měřeno s šířkou pulzu 10,3  $\mu\text{s}$ , relaxačním zpožděním 10 s, dobou akvizice 0,67 s, 472 skenů.

### Rentgenová fluorescence

Vzorky byly analyzovány energeticky disperzním rentgenovým fluorescenčním spektrometrem SPECTRO XEPOS (SPECTRO Analytical Instruments, Německo), vybaveným křemíkovým driftovým detektorem a excitačním systémem s anodovou rentgenovou trubicí 50W Pd. Komora byla během analýz vzorků propláchnuta heliem. Pro analýzu dat byl použit software Spectro Xepos (metoda TurboQuant). K detekci přítomnosti či potvrzení nepřítomnosti jódu v nově připravených iontových kapalinách byla použita energeticky disperzní rentgenová fluorescenční spektroskopie (XRF).

### Diferenční skenovací kalorimetrie

Měření diferenční skenovací kalorimetrie byla prováděna na přístroji DSC 8500 (Perkin Elmer) s dusíkem jako proplachovacím plynem (20 ml  $\text{min}^{-1}$ ). Přístroj byl kalibrován pomocí india jako standardu. Vzorky o přibližné hmotnosti 10 mg byly zapouzdřeny do hliníkových misek. DSC běhy byly provedeny v cyklu ohřev-chlazení-ohřev z  $-90$  °C na 100 °C při rychlosti 10 °C  $\text{min}^{-1}$ . Byla stanovena teplota skelného přechodu ( $T_g$ ).

### Termogravimetrická analýza

Termogravimetrická analýza byla zaznamenána přístrojem Pyris 1 (Perkin Elmer), za použití následujícího postupu: 5–10 mg vzorku bylo zahříváno konstantní rychlostí ohřevu 10 °C  $\text{min}^{-1}$  s průtokem dusíku 30 ml  $\text{min}^{-1}$  z 30 °C na 650 °C.

### Iontová vodivost

Iontová vodivost byla měřena AC impedanční spektroskopii na přístroji Autolab 302N (Metrohm). Měření byla prováděna v PFA swagelokové cele obsahující 2 platinové a 2 sklokarbonové elektrody při pokojové teplotě. Objem cely byl cca 4  $\text{cm}^3$ . Intervaly pro frekvenční

rozsah byly v rozsahu 1 Hz až 1 MHz při použití amplitudy napětí 0,1 V. Konstanta cely byla stanovena pomocí standardního roztoku KCl s koncentračním rozsahem mezi  $5 \cdot 10^{-4}$  a  $1 \cdot 10^{-1}$  mol  $\text{l}^{-1}$  při teplotě 25 °C. Odpor ( $v$   $\Omega$ ) byl určen z hodnoty dotyku reálné osy Nyquistova grafu, ze které byla vypočtena vodivost ( $\text{mS cm}^{-1}$ ).

### Cyklická voltametrie

Pro stanovení potenciálového okna neboli elektrochemické stability byla použita cyklická voltametrie (CV). Měření CV byla prováděna na přístroji Autolab 302N (Metrohm), ve třech elektrodových člancích PFA Swagelok. Jako pracovní elektroda a protelektroda byl použit skelný uhlík (Sigradur K, HTW,  $A = 0,189 \text{ cm}^2$ ). Jako kvazireferenční elektroda byl použit stříbrný drát. Objem cely byl cca 1  $\text{cm}^3$ . Potenciálové okno bylo stanoveno jako potenciál pracovní elektrody, hustota aplikovaného proudu byla +200  $\mu\text{A cm}^{-2}$ , resp.  $-200 \mu\text{A cm}^{-2}$ . Korekce vyhodnocených dat byla provedena pomocí nekompenzovaného odporu ( $R_u$ ) elektrolytu.  $R_u$  byl měřen v systému tří elektrod pomocí RLC můstku (Hameg Instruments).

## Výsledky a diskuse

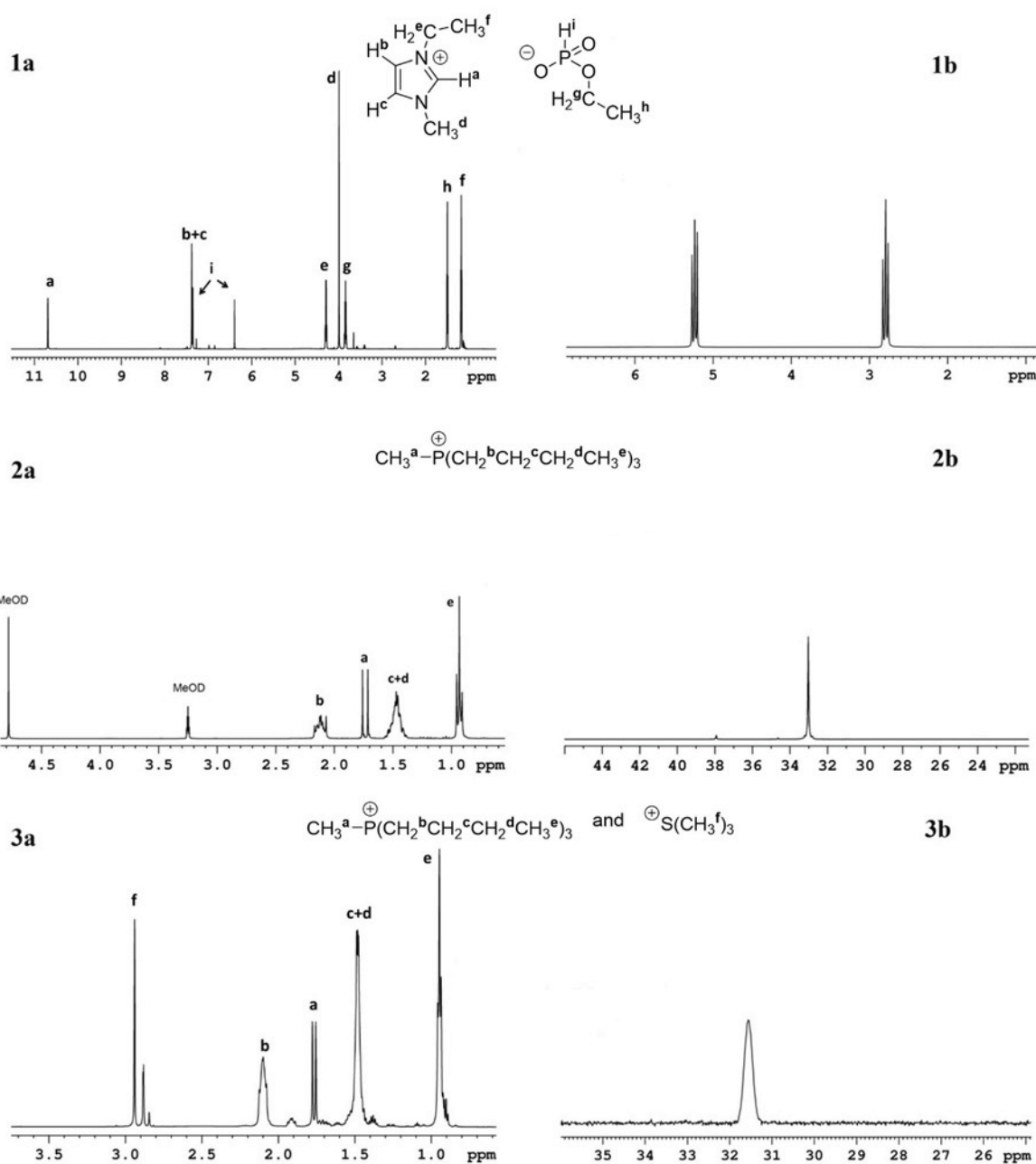
### NMR spektroskopie

Obr. 2 ukazuje  $^1\text{H}$  (1a, 2a, 3a) a  $^{31}\text{P}$  (1b, 2b, 3b) NMR spektra připravených iontových kapalin. Přiřazení rezonancí k různým typům protonů a chemické struktury jsou znázorněny přímo na každém obrázku (1a, 2a, 3a).

Část 1 popisuje spektrum deuterovaného chloroformového roztoku  $[\text{EtMeIm}]^+[\text{EtPITE}]^-$ . Singlet  $\delta = 10,7$  ppm souvisí s methylenovou skupinou mezi atomy dusíku v heterocyklu (a). Signál multipletu ostatních methylenových skupin z heterocyklu (b, c) byl pozorován při  $\delta = 7,4$  ppm. Nejsilnější singletový signál při  $\delta = 4$  ppm patří methylové skupině vázané dusíkem (d). Methylenové skupině připojené k dusíkovému kationtu (e) odpovídá multiplet při  $\delta = 4,3$  ppm. K methyly (f) byl přiřazen multiplet při  $\delta = 1,2$  ppm. Methylen navázaný na kyslík (g) má podobný multipletový signál jako methylenová skupina navázaná na dusíkový kationt, ale tento signál je pozorován při  $\delta = 3,8$  ppm. Singletový signál při  $\delta = 1,5$  ppm souvisí s methylovou skupinou (h) vázanou s methylenem navázaným na kyslík. Vodík navázaný na fosfor (i) vykazuje dva signály při  $\delta = 7,4$ , resp. 6,4 ppm.

Část 2 ukazuje spektrum pro roztok deuterovaného methanolu  $[\text{P}_{1444}]^+[\text{TFSI}]^-$ . Signál multipletu methylenových skupin navázaných na fosfor (b) byl pozorován při  $\delta = 2,12$  ppm, charakteristický dublet methylové skupiny navázané na fosfor (a) byl zjištěn při  $\delta = 1,73$  ppm. Multiplet při  $\delta = 1,49$  ppm byl přiřazen methylenovým protonům (c, d) a triplet při  $\delta = 0,96$  ppm souvisí s methylovou skupinou (e).

Část 3 popisuje spektrum deuterovaného chloroformového roztoku  $[\text{S}_{111}]^+[\text{TFSI}]^-$  smíchaného s  $[\text{P}_{1444}]^+$



Obr. 2. NMR spektra.  $^1\text{H}$  NMR spektra kationtů  $[\text{EtMeIm}]^+$  (1a),  $[\text{P}_{1444}]^+$  (2a) a směs  $[\text{P}_{1444}]^+$  s  $[\text{S}_{111}]^+$  (3a);  $^{31}\text{P}$  NMR spektra kationtů  $[\text{EtMeIm}]^+$  (1b),  $[\text{P}_{1444}]^+$  (2b) a směs  $[\text{P}_{1444}]^+$  s  $[\text{S}_{111}]^+$  (3b)

$[\text{TFSI}]^-$  v hmotnostním poměru 1 : 1. Primárním rozdílem mezi 2a a 3a je silný singletový signál (f) při  $\delta = 2,9$  ppm, který souvisí s methylovými skupinami připojenými ke kationtu síry. Tento signál potvrdil přítomnost  $[\text{S}_{111}]^+$   $[\text{TFSI}]^-$  v připraveném vzorku.

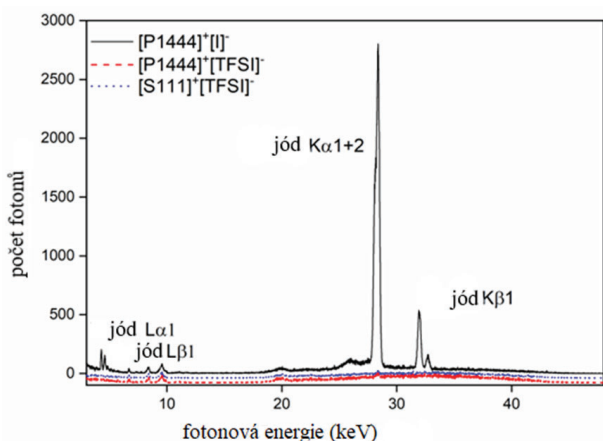
$^{31}\text{P}$  NMR spektra takto připravených iontových kapalin jsou uvedena ve druhé části (1b, 2b, 3b) obrázku. Silný signál při  $\delta = 33,0$  ppm, resp. 31,5 ppm byl přiřazen kationtu fosforu (1). Dublet tripletů pozorovaný v části 1b se

objevuje díky pulznímu programu experimentu, spektrum  $^{31}\text{P}$  bylo měřeno bez protonové vazby.

NMR spektra potvrdila strukturu a čistotu syntetizovaných iontových kapalin.

#### Rentgenová fluorescence

Jod a další halogeny mohou být při vysokém napětí snadno oxidovány v elektrických člancích nebo bateri-



Obr. 3. Srovnání XRF spekter  $[P_{1444}]^+[TFSI]^-$  s  $[S_{111}]^+[TFSI]^-$  a  $[P_{1444}]^+[I]^-$

ích<sup>26</sup>, a proto je jejich přítomnost v iontových kapalinách nežádoucí. Přístroj ED-XRF detekoval jod ve výchozí sloučenině  $[P_{1444}]^+[I]^-$  a potvrdil jeho nepřítomnost v nově připravené iontové kapalině  $[P_{1444}]^+[TFSI]^-$  a  $[S_{111}]^+[TFSI]^-$  (obr. 3). Tímto bylo potvrzeno, že připravené iontové kapaliny byly řádně promyty a neobsahují stopy jodidu, který byl použit při jejich syntéze.

#### Tepelné vlastnosti

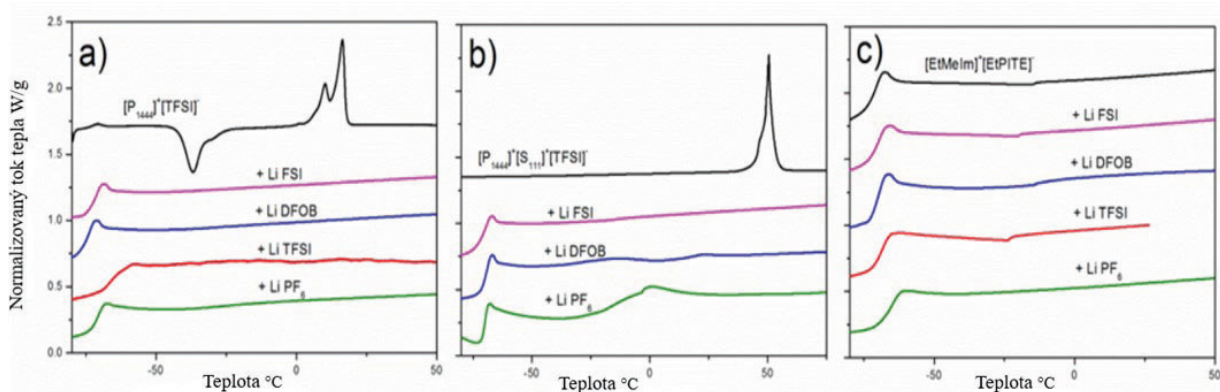
Vlivy přidání  $Li^+$  solí do připravených iontových kapalin na teplotní chování byly studovány diferenciální skenovací kalorimetrií. První ohřevy jsou znázorněny na obr. 4. Iontové kapaliny  $[P_{1444}]^+[TFSI]^-$  a  $[P_{1444}]^+[S_{111}]^+[TFSI]^-$  vykazovaly semikrystalické chování s nízkými teplotami tání, totiž 16 °C resp. 51 °C. Krystalizace IK není pro použití v bateriích žádoucí. DSC měření jejich směsí se solemi  $Li^+$  však odhalila iontové interakce, které způsobily amorfizaci matric IK. Všechny použité soli mě-

ly podobný účinek, což vedlo k plně amorfním materiálům s  $T_g = -75$  °C až  $-65$  °C pro  $[P_{1444}]^+[TFSI]^-$  a  $T_g$  kolem  $-70$  °C pro  $[P_{1444}]^+[S_{111}]^+[TFSI]^-$  směsi. Vzorek  $[EtMeIm]^+[EtPITE]^-$  byl amorfní s  $T_g = -72$  °C a přidavek  $Li^+$  solí tuto teplotu jen mírně posunul k vyšším hodnotám (z  $-72$  °C na  $-66$  °C). Z tohoto hlediska jsou všechny připravené směsi iontových kapalin s  $Li^+$  solemi vhodné jako elektrolyty v bateriích.

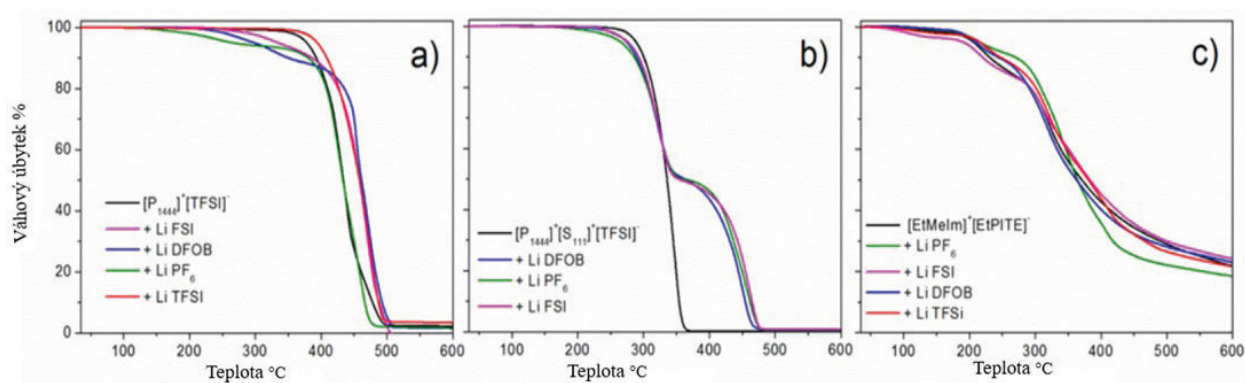
Jednou ze zmíněných výhod IK je jejich tepelná stabilita, která byla pro čisté IK a jejich směsi se solemi  $Li^+$  ověřena termogravimetrií (TGA), viz obr. 5. Obě IK s aniontem TFSI vykazovaly dobrou tepelnou stabilitu:  $[P_{1444}]^+[TFSI]^-$  je stabilní až do 300 °C,  $[P_{1444}]^+[S_{111}]^+[TFSI]^-$  do 250 °C. Oproti tomu iontová kapalina  $[EtMeIm]^+[EtPITE]^-$  měla výrazně nižší tepelnou stabilitu, a to pouze do 150 °C, dokonce ani přidavek  $Li^+$  solí ji nijak zvlášť nezvýšil. Přidavek  $Li^+$  solí neměl žádný vliv na tepelnou stabilitu směsi  $[P_{1444}]^+[S_{111}]^+[TFSI]^-$  (stabilní do 250 °C). Iontové interakce IK se solemi  $Li^+$  však měly vliv na jejich degradaci při vyšších teplotách; ta byla posunuta o cca 120 °C směrem k vyšším hodnotám. V případě  $[P_{1444}]^+[TFSI]^-$  lithiové soli mírně zhoršují tepelnou stabilitu. Nicméně všechny směsi kromě  $[P_{1444}]^+[TFSI]^- + LiPF_6$  byly stále stabilní až do 200 °C. Vzorek s  $LiPF_6$  nevykazoval žádný úbytek hmotnosti až do 110 °C. Tato nižší stabilita může být spojena s vysokým obsahem vody pevně navázané na  $LiPF_6$ . Závěrem lze říci, že připravené iontové kapaliny jsou dostatečně teplotně stabilní, aby nepředstavovaly žádné nebezpečí výbuchu ve srovnání s karbonátovými elektrolyty, které jsou shrnuty v tab. III.

#### Iontová vodivost

V tabulce V jsou uvedeny iontové vodivosti připravených IK s různými typy lithných solí o koncentraci 0,3 M. Všechny vzorky byly měřeny ve stejné cele a za stejných podmínek. Měření byla provedena při teplotě 25 °C; je známo, že  $Li$ -ion baterie mají horší vodivosti jak při zvýšené ( $> 50$  °C), tak i nízké teplotě ( $< -20$  °C)<sup>27</sup>.



Obr. 4. DSC křivky matric iontových kapalin (a)  $[P_{1444}]^+[TFSI]^-$ , (b)  $[P_{1444}]^+[S_{111}]^+[TFSI]^-$ , (c)  $[EtMeIm]^+[EtPITE]^-$  a jejich směsi s  $Li^+$  solemi



Obr. 5. TGA křivky čistých iontových kapalin (a)  $[P_{1444}]^+ [TFSI]^-$ , (b)  $[P_{1444}]^+ [S_{111}]^+ [TFSI]^-$  (c)  $[EtMeIm]^+ [EtPITE]^-$  a jejich směsí s  $Li^+$  solemi

Iontová kapalina  $[EtMeIm]^+ [EtPITE]^-$  vykazuje špatné vodivostní vlastnosti s jakoukoliv použitou  $Li^+$  solí, a to díky své vysoké viskozitě. Ačkoli podobná studie s různými imidazoliiovými iontovými kapalinami ukazuje, že ve směsi s lithnými solemi mají vyšší vodivost<sup>28</sup>, hlavní rozdíl je dán podstatou čisté imidazoliové iontové kapaliny, která má sama o sobě nižší viskozitu než námi připravená  $[EtMeIm]^+ [EtPITE]^-$ . Oproti tomu naše připravená iontová kapalina  $[P_{1444}]^+ [TFSI]^-$  vykazuje vodivost řádově vyšší, než podobná fosfoniová iontová kapalina  $[P_{1444}]^+$  s různými typy aniontu, popsána v publikaci<sup>29</sup>; v této studii má iontová kapalina iontovou vodivost při 30 °C v rozmezí od  $7,8 \cdot 10^{-8}$  do  $1,7 \cdot 10^{-4} S cm^{-1}$ , zatímco my naměřili u námi připravené  $[P_{1444}]^+ [TFSI]^-$  při 25 °C ionto-

vu vodivost  $0,3 \cdot 10^{-4}$  až  $6 \cdot 10^{-4} S cm^{-1}$ . Výsledky srovnatelné s našimi ukazuje také studie provedená s fosfoniovými iontovými kapalinami s různou délkou alkylového řetězce<sup>7</sup>. Byly studovány elektrochemické vlastnosti různých sulfoniových iontových kapalin<sup>30</sup> s podobnými hodnotami iontové vodivosti jako naše výsledky prezentované pro sulfoniovou IK. Lze uzavřít, že nejvyšší iontová vodivost byla pozorována ve směsi  $[P_{1444}]^+ [S_{111}]^+ [TFSI]^-$ , zejména při použití lithné soli LiDFOB; v tomto případě byl dosažen limit  $1 mS cm^{-1}$ . Pro srovnání iontové vodivosti karbonátových elektrolytů se obvykle pohybují mezi 5 až  $10 mS cm^{-1}$  v závislosti na typu a složení.

#### Tabulka V

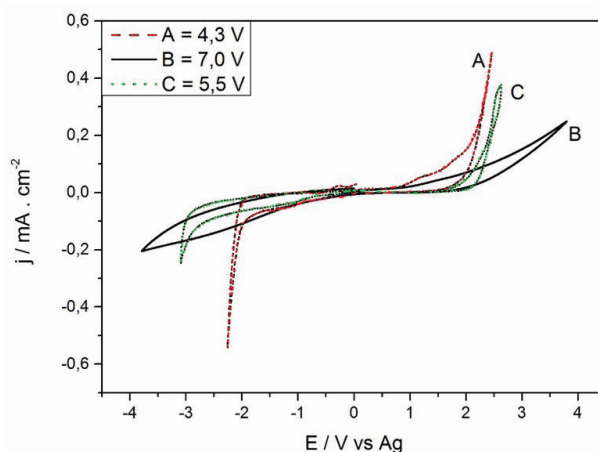
Srovnání iontových vodivostí připravených elektrolytů při 25 °C a koncentraci solí 0,3 M; tučně zvýrazněné hodnoty odpovídají nejvyšší naměřené iontové vodivosti dané IK

Iontová kapalina	Přidaná sůl <sup>a</sup>	Iontová Vodivost <sup>b</sup> [ $mS cm^{-1}$ ]
$[EtMeIm]^+ [EtPITE]^-$	LiFSI	0,02
	LiDFOB	0,02
	LiTFSI	0,02
	LiPF <sub>6</sub>	<b>0,03</b>
	LiFSI	<b>0,50</b>
$[P_{1444}]^+ [TFSI]^-$	LiDFOB	<b>0,60</b>
	LiTFSI	0,45
	LiPF <sub>6</sub>	0,40
	LiFSI	0,85
$[P_{1444}]^+ [S_{111}]^+ [TFSI]^-$	LiDFOB	<b>1,00</b>
	LiTFSI	0,70
	LiPF <sub>6</sub>	0,65

<sup>a</sup> 0,3 M, <sup>b</sup> 25 °C

#### Cyklická voltametrie

Cyklická voltametrie je metoda určená pro hodnocení elektrochemického chování systému; zaznamenává se



Obr. 6. Záznam z měření cyklické voltametrie v závislosti proudové hustoty na napětí: (A) –  $[EtMeIm]^+ [EtPITE]^- + LiPF_6$ , (B) –  $[P_{1444}]^+ [TFSI]^- + LiDFOB$ , (C) –  $[P_{1444}]^+ [S_{111}]^+ [TFSI]^- + LiDFOB$

## Tabulka VI

Vypočtené hodnoty oxidačního ( $E^{\circ}_{\text{ox}}$ ) a redukčního ( $E^{\circ}_{\text{red}}$ ) potenciálu kationtů a aniontů iontových kapalin proti Li<sup>+</sup>/Li referenční elektrodě nebo elektrodě ze skelného uhlíku (GC), platiny (Pt) nebo wolframu (W). Dále jsou uvedeny hodnoty potenciálového okna (ESW)

Iontová kapalina	Kation		Anion		ESW (cyklická metoda)	ESW experimentální
	$E^{\circ}_{\text{ox}}$ [V]	$E^{\circ}_{\text{red}}$ [V]	$E^{\circ}_{\text{ox}}$ [V]	$E^{\circ}_{\text{ox}}$ [V]		
[C <sub>2</sub> MIM] <sup>+</sup> [TFSI] <sup>-</sup>	6,072	-3,106	1,125	-7,523	4,232	4,5 (GC)
[C <sub>3</sub> MIM] <sup>+</sup> [TFSI] <sup>-</sup>	6,104	-3,317	1,087	-7,613	4,204	4,3 (GC)
[C <sub>4</sub> MIM] <sup>+</sup> [TFSI] <sup>-</sup>	6,131	-3,131	1,039	-7,723	4,169	4,6 (Pt)
[C <sub>2</sub> MIM] <sup>+</sup> [TfO] <sup>-</sup>	5,975	-3,033	1,685	-7,482	4,717	4,1 (Pt)
[C <sub>4</sub> MIM] <sup>+</sup> [BF <sub>4</sub> ] <sup>-</sup>	5,974	-2,973	3,851	-8,538	6,824	6,1 (W)
[C <sub>4</sub> MIM] <sup>+</sup> [PF <sub>6</sub> ] <sup>-</sup>	5,988	-3,005	4,987	-9,818	7,992	>7,1 (W)

proud, který putuje od kladné elektrody k záporné (a naopak)<sup>31</sup>. V této studii jsme měřili hodnoty elektrochemického (potenciálového) okna (ESW) pro vybrané IK, které vykazovaly nejvyšší iontovou vodivost. Elektrochemické okno je rozsah napětí mezi kladnou a zápornou elektrodou, neboli šířka tohoto intervalu. Nejužší ESW bylo pozorováno u [EtMelm]<sup>+</sup>[EtPITE]<sup>-</sup> s přidáním LiPF<sub>6</sub> (obr. 6 A), jehož hodnota (4,3 V) se nachází na spodní hranici použití pro lithiové baterie. Je vhodný pro nízkonapěťové katody jako Lithium Iron Phosphate (LFP), Lithium Cobalt Oxide (LCO) nebo Lithium Manganese Oxide (LMO)<sup>1</sup>. Podobný experiment s 1-alkyl-3-methylimidazoliem ([C<sub>n</sub>MIM]<sup>+</sup>) kationty s  $n=2$  až 6) s různými anionty, totiž bis(trifluormethylsulfonyl)imidem (TFSI)<sup>-</sup>, hexafluorofosfátem (PF<sub>6</sub>)<sup>-</sup>, tetrafluorborátem (BF<sub>4</sub>)<sup>-</sup> a trifluormethansulfonátem (TfO)<sup>-</sup>, ukázal široký rozsah hodnot ESW. Nejširší ESW vykazuje IK s aniontem PF<sub>6</sub>, zatímco nejužší pak IK s aniontem TFSI, což znamená, že elektrochemická stabilita je ovlivněna strukturou aniontu: vysoce fluorované anionty bývají stabilnější vůči oxidaci i redukci, viz tab. VI (cit.<sup>32</sup>).

Hodnoty potenciálových oken (ESW) naměřené pro další dvě připravené iontové kapaliny [P<sub>1444</sub>]<sup>+</sup>[S<sub>111</sub>]<sup>+</sup>[TFSI]<sup>-</sup> s přidáním LiDFOB a [P<sub>1444</sub>]<sup>+</sup>[TFSI]<sup>-</sup> s přidáním LiDFOB vykazují oproti imidazoliové IK daleko vyšší hodnoty ESW (5,5 V, resp. 7,0 V, obr. 6 C, B). Díky tomu lze použít tyto IK v Li-ion bateriích s novou vysokonapěťovou katodou (např. LMNO). Vzhledem k tomu, že zde existuje potenciál pro ještě vyšší ESW při použití těchto IK s více fluorovanými anionty, je žádoucí provést další experimenty.

## Závěr

V této práci je popsána syntéza a charakterizace tří iontových kapalin s imidazoliovými, fosfoniiovými a sulfoniiovými kationty. Z těchto IK byly po přidání různých typů lithiových solí připraveny elektrolyty, u kterých byly studovány tepelné a elektrochemické vlastnosti pro posouzení jejich uplatnění jakožto nového typu elektrolytu pro lithium-iontové baterie.

- Ethyl-ester ethylmethylimidazoliumfosfonové kyseliny [EtMelm]<sup>+</sup>[EtPITE]<sup>-</sup> s přidáním Li<sup>+</sup> solemi vykazoval velmi malé vodivosti (okolo 0,02 mS cm<sup>-1</sup>) a poměrně úzké potenciálové okno ESW = 4,3 V. Tato IK na bázi imidazolia měla i nejhorší tepelné vlastnosti bez ohledu na to, jestli byla měřena v čistém stavu nebo s přidáním Li<sup>+</sup> soli. Použití této IK jako elektrolytu pro LIB se jeví málo pravděpodobné.
- Methyltributylfosfonium bis(trifluormethylsulfonyl)imid [P<sub>1444</sub>]<sup>+</sup>[TFSI]<sup>-</sup> s přidáním Li<sup>+</sup> solemi měl již vodivosti o poznání vyšší (0,4–0,6 mS cm<sup>-1</sup>), přičemž zároveň vykazuje velmi dobrou elektrochemickou stabilitu ESW = 7 V. TGA křivky [P<sub>1444</sub>]<sup>+</sup>[TFSI]<sup>-</sup> ukázaly vynikající tepelnou stabilitu až do 300 °C. DSC měření odhalila semikrystalické chování [P<sub>1444</sub>]<sup>+</sup>[TFSI]<sup>-</sup>, ale tato nepříznivá skutečnost byla překonána přidáním Li<sup>+</sup> soli. Potenciál této IK pro použití v LIB je tedy velmi vysoký.
- Trimethylsulfonium bis(trifluormethylsulfonyl)imid [S<sub>111</sub>]<sup>+</sup>[TFSI]<sup>-</sup> je za pokojové teploty pevná krystalická látka, která proto byla smíchána s [P<sub>1444</sub>]<sup>+</sup>[TFSI]<sup>-</sup>. Výsledná směs [P<sub>1444</sub>]<sup>+</sup>[S<sub>111</sub>]<sup>+</sup>[TFSI]<sup>-</sup> dosahovala ve srovnání s ostatními připravenými IK nejvyšších vodivostí (0,6–1,0 mS cm<sup>-1</sup>). Elektrochemická stabilita této látky je také zajímavá (ESW = 5,5 V). Tepelné vlastnosti jsou srovnatelné s [P<sub>1444</sub>]<sup>+</sup>[TFSI]<sup>-</sup>. Tato směs je perspektivním elektrolytem pro Li-ion baterie.

*Zvláštní poděkování patří institutu MEET v Münsteru za poskytnutí vybavení a sdílení svých znalostí, které mi pomohly dokončit tuto práci.*

## Seznam použitých zkratk

c	molární koncentrace (mol l <sup>-1</sup> )
CV	cyklická voltametrie
[C <sub>n</sub> MIM] <sup>+</sup>	1-alkyl-3-methylimidazolium
DEC	diethylkarbonát
DMC	dimethylkarbonát

DSC	diferenční skenovací kalorimetrie
$E_{ox}^0$	oxidační potenciál
$E_{red}^0$	redukční potenciál
EC	ethylenkarbonát
EMImBF <sub>4</sub>	1-ethyl-3-methylimidazolium-tetrafluoroborát
EMImNTf <sub>2</sub>	1-ethyl-3-methylimidazolium bis(trifluorometansulfonyl)imid
ESW	Electrochemical Stability Window (elektrochemická stabilita)
[EtMeIm] <sup>+</sup> [EtPITE] <sup>-</sup>	ethylmethylimidazolium diethylfosfit
$F_p$	flash point (bod vzplanutí)
IK	iontová kapalina
LCO	lithium-kobalt-oxid
LiDFOB	lithium difluor(oxalato)-borát
LFP	lithium železo-fosfát
LIB	lithium-iontová baterie
LiBF <sub>4</sub>	lithium tetrafluoroborát
LiFSI	lithium bis(floursulfonyl)imid
LiPF <sub>6</sub>	lithium hexafluorofosfát
LiTFSI	lithium bis(trifluoromethylsulfonyl)imid
LMO	lithium-mangan-oxid
$M$	molární hmotnost (g mol <sup>-1</sup> )
NMC	nikl-mangan-kobalt oxid
[P <sub>1444</sub> ] <sup>+</sup> [TFSI] <sup>-</sup>	methyltributylfosfonium bis(trifluormethyl sulfonyl)imid
PC	propylen-karbonát
[S <sub>111</sub> ] <sup>+</sup> [TFSI] <sup>-</sup>	trimethylsulfonium bis(trifluormethyl sulfonyl)imid
SET	Self-Extinguishing Time (doba samozhášení)
[TfO] <sup>-</sup>	trifluormethansulfonát
TGA	termogravimetrická analýza
$T_g$	teplota skelného přechodu (°C)
$V$	objem (l)
XRF	rentgenová fluorescenční analýza

## LITERATURA

- Chen X., Shen W., Vo T. T., Cao Z., Kapoor A.: *10th International Power & Energy Conference (IPEC) 2012*, str. 230, Vietnam, Ho Chi Minh City. doi:10.1109/ASSCC.2012.6523269.
- Mathew M., Janhunen S., Rashid M., Long F., Fowler M.: *Energies* 11 (6), 1490 (2018).
- Nainville I., Lemarchand A., Badiali J. P.: *Electrochim. Acta* 41, 2855 (1996).
- Hui C., Shapter J. G., Yongying L., Gua G.: *J. Energy Chem.* 57, 451 (2021).
- Goriparti S., Miele E., De Angelis F., Di Fabrizio E., Zaccaria R. P., Capiglia C.: *J. Power Sources* 257, 421 (2014).
- Li W., Song B., Manthiram A.: *Chem. Soc. Rev.* 46, 3006 (2017).
- Lin X., Kaviani R., Lu Y., Hu Q., Shao-Horn Y., Grinstaff M. W.: *Chem. Sci.* 6, 6601 (2015).
- Roth E. P., Orendorff C. J.: *Electrochem. Soc. Interface* 21, 45 (2012).
- Hess S., Wohlfahrt-Mehrens M., Wachtler M.: *J. Electrochem. Soc.* 162 (2), A3084 (2015).
- Swiederska-Mocek A., Jakobczyk P., Rudnicka E., Lewandowski A.: *J. Mol. Liq.* 318, 113986 (2020).
- Blomgren G. E.: *J. Power Sources* 81–82, 112 (1999).
- Famprakis T., Canepa P., Dawson J. A., Islam M. S., Masquelier C.: *Nat. Mater.* 18, 1278 (2019).
- Wang J., Yamada Y., Sodeyama K., Watanabe E., Takada K., Tateyama Y., Yamada A.: *Nat. Energy* 3, 22 (2018).
- Galiński M., Lewandowski A., Stepniak I.: *Electrochim. Acta* 51, 5567 (2006).
- Francies C. F. J., Kyratzis I. L., Best A. S.: *Adv. Mater.* 32, 1904205 (2020).
- Ye Y.-S., Rick J., Hwang B.-J.: *J. Mater. Chem. A* 1, 2719 (2013).
- Kar M., Simons T. J., Forsyth M., MacFarlane D. R.: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 16, 18658 (2014).
- Girard G. M. A., Hilder M., Zhu H., Nucciarone D., Whitbread K., Zavorine S., Moser M., Forsyth M., MacFarlane D. R., Howlett P. C.: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 17, 8706 (2015).
- Martins V. L., Sanchez-Ramirez N., Ribeiro M. C. C., Torresi R. M.: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 17, 35 (2015).
- Pandian S., Raju S. G., Hariharan K. S., Kolake S. M., Park D.-H., Lee M.-J.: *J. Power Sources* 286 (2015).
- Tsunashima K., Sugiya M.: *Electrochem. Commun.* 9, 9 (2007).
- Seki S., Hayamizu K., Tsuzuki S., Fujii K., Umebayashi Y., Mitsugi T., Kobayashi T., Ohno Y., Kobayashi Y., Mita Y., Miyashiro H., Ishiguro S.-I.: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 11, 3509 (2009).
- Zhao D., Fei Z., Ang W. H., Dyson P. J.: *Int. J. Mol. Sci.* 8, 4 (2007).
- Forsyth M., Girard G. M. A., Basile A., Hilder M., MacFarlane D. R., Chen F., Howlett P. C.: *Electrochim. Acta* 220 (2016).
- Anouti M., Caillon-Caravanier M., Dridi Y., Galiano H., Lemordant D.: *J. Phys. Chem. B* 112, 42 (2008).
- Woo J. J., Cha J. S., Hansung K., Jung H. Y.: *ACS Appl. Mater. Interfaces* 13, 6385 (2021).
- Kang X., Ding S. P., Jow T. R.: *J. Electrochem. Soc.* 149, A586 (2002).
- McEwen A. B., Ngo H. L., LeCompte K., Goldman J. L.: *J. Electrochem. Soc.* 146, 1687 (1999).
- Wu F., Schür A. R., Kim G.-T., Dong X., Kuenzel M., Diemant T., D'Orsi G., Simonetti E., De Francesco M.,



- Bellusci M., Appetecchi G. B., Passerini S.: *Energy Storage Mater.* 42, 826 (2021).
30. Yang L., Zhang Z.-X., Gao X.-H., Mashita K.: *J. Power Sources* 162, 614 (2006).
31. Choudhary Y. S., Jothi L., Nageswaran G., v knize: *Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterizations* (Thomas S., Thomas R., Zachariah A. K., Mishra R. K., ed.), kap. 2, str. 19. Elsevier, Amsterdam 2017.
32. Kazemiabnavi S., Zhang Z., Thorton K., Banerjee S.: *J. Phys. Chem. B* 120, 5691 (2016).

**B. Galajdová, J. Žitka, L. Pavlovec, O. Trhliková, J. Kredatusová, and R. Konefal** (*Institute of Macromolecular Chemistry of the Academy of Science of the Czech Republic, v.v.i., Prague*): **Synthesis and Electrochemical Properties of Electrolytes Based on Phosphonium, Sulfonium and Imidazolium Ionic Liquids for Li-ion batteries**

This work describes synthesis and characterization of three ionic liquids (IL) with imidazolium, phosphonium or sulfonium cations. These ILs were used as precursors for the preparation of electrolytes by adding various types of lithium salts. Thermal and electrochemical properties of the electrolytes were studied to assess their feasibility for usage in lithium-ion batteries (LIB). Ethylmethylimidazolium phosphonic acid ethyl ester  $[\text{EtMeIm}]^+[\text{EtPITE}]^-$  with added Li salts showed very low conductivities of about  $0.02 \text{ mS cm}^{-1}$  and a rather narrow electrochemical stability window of 4.3 V. Of all the ILs under study, this

imidazolium-based IL exhibited the worst thermal properties both neat and with additional  $\text{Li}^+$  salt. Therefore, using this IL as an electrolyte for LIB is unlikely. Methyltributylphosphonium bis(trifluoromethyl sulfonyl) imide  $[\text{P}_{1444}]^+[\text{TFSI}]^-$  with Li salts had already significantly higher conductivities of  $0.4\text{--}0.6 \text{ mS cm}^{-1}$  and showed a very wide electrochemical stability window of 7 V. TGA curves of  $[\text{P}_{1444}]^+[\text{TFSI}]^-$  show excellent thermal stability up to  $300 \text{ }^\circ\text{C}$ . DSC measurements showed semicrystalline behaviour of  $[\text{P}_{1444}]^+[\text{TFSI}]^-$ ; this unfavourable fact was overcome by the addition of  $\text{Li}^+$  salts. Potential of this IL is very high for the use in LIB. At room temperature, trimethylsulfonium bis(trifluoromethyl sulfonyl) imide  $[\text{S}_{111}]^+[\text{TFSI}]^-$  is a solid crystalline material, so it was mixed with  $[\text{P}_{1444}]^+[\text{TFSI}]^-$ . The resulting mixture  $[\text{P}_{1444}]^+[\text{S}_{111}]^+[\text{TFSI}]^-$  achieved the highest conductivities of  $0.6\text{--}1.0 \text{ mS cm}^{-1}$  in comparison to other prepared ILs. The electrochemical stability is also interesting, its ESW value being 5.5 V. Thermal properties are comparable to those of  $[\text{P}_{1444}]^+[\text{TFSI}]^-$ , but it does not show semicrystalline behaviour. This mixture is a promising electrolyte for LIB.

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

Keywords: ionic liquids, electrolyte, Li-ion battery, sulfonium, phosphonium

#### Acknowledgements

Special thanks to the MEET Institute in Münster for providing me the equipment and sharing their knowledges, which helped me to finish this work.

## JAK UČIT BIOCHEMII? MEZIPŘEDMĚTOVĚ A S PODPOROU DYNAMICKÉ VIZUALIZACE!

DAVID ŠARBOCH<sup>a</sup>, MILADA TEPLÁ<sup>a</sup> a INA RAJSIGLOVÁ<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Katedra učitelství a didaktiky chemie, Přírodovědecká fakulta UK, Albertov 6, 128 00 Praha 2, <sup>b</sup> Katedra učitelství a didaktiky biologie, Přírodovědecká fakulta UK, Albertov 6, 128 00 Praha 2  
ina.rajsiglova@natur.cuni.cz

Došlo 19.12.22, přijato 15.3.23.

Článek prezentuje význam dynamické vizualizace a interdisciplinaritu ve výuce biochemie. Detailněji bylo představeno pět výukových souborů, které byly určeny pro podporu výuky biochemie na středních školách gymnaziálního typu. Efektivita vybraných animací byla ve školní praxi sledována prostřednictvím pedagogického výzkumu, který byl realizován v letech 2019 až 2020. Výsledky výzkumu ukázaly, že používání animací ve výuce biochemicky zaměřených témat má pozitivní vliv na vnitřní motivaci žáků a též významný pozitivní vliv na osvojené znalosti.

Klíčová slova: výuka biochemie, vizualizace, animace, interdisciplinarita

### 1. Specifika oboru biochemie ve školní praxi

Biochemie je důležitou oblastí vědění a oborem se vztahem k procesům probíhajícím např. v lidském těle. Obvykle se na středních školách nevyučuje jako samostatný předmět. Některé biochemické (příp. molekulárně biologické) pojmy a principy jsou zahrnuty v biologii, jiné v chemii, příp. v obou předmětech nezávisle na sobě. Vzhledem k rychlému rozvoji biochemie se znalosti v této oblasti exponenciálně rozrůstají, biochemie tak představuje pro žáky náročnou a abstraktní disciplínu, neboť by měla obsáhnout: a) teoretické i praktické poznatky týkající se buněčné podstaty fyziologických a metabolických procesů fungování např. lidského těla, b) propojit poznatky předávané často separátně v biologii a/nebo v chemii.

Dochází tak k tomu, že i učitelé, kteří neabsolvovali studium biologie nebo chemie, nejsou obeznámeni se současným stavem této disciplíny. Ve většině škol tak učitelé omezují své pojetí výuky na klasické koncepty, jako je Krebsův cyklus, nukleové kyseliny aj. a v laboratoři se drží tradičních demonstrací, jako jsou např. důkazové reakce cukrů pomocí Fehlingova činidla.

Z výše uvedeného se dá odvodit, že výuka biochemie má své specifické rysy, neboť zahrnuje rozsáhlý terminologický základ, jako jsou názvy enzymů a metabolických drah, a zároveň řadu na sebe navazujících procesů vyjádřených chemickými vzorci a reakcemi. Je zřejmé, že toto specifické porozumění obsahu vyžaduje vysokou úroveň abstraktního myšlení. To vše vede didaktiky a vzdělavatele učitelů k hledání takových výukových technik a nástrojů, kterými by se žákům výuka biochemie přiblížila, a zároveň přinesla učitelům takové materiály, které by ve výuce snadno mohli využít.

### 2. Význam vizualizace a interdisciplinaritu ve výuce biochemie

V posledních letech je velmi silně diskutovaným tématem motivace žáků<sup>1</sup>. Vyvolání a udržení zájmu o studium je problematické zejména u oborů, které jsou pro žáky velmi abstraktní (např. biochemie či molekulární biologie) a tudíž náročné na pochopení a žákovu představitelost<sup>2</sup>. Z toho důvodu by měly být zkoumány nové způsoby výuky těchto oborů (tedy i biochemie), které by jednoznačně učinily abstraktní témata zajímavější a snáze pochopitelná. Z literatury je možné sledovat doporučení různých autorů využívat ve výuce vizualizačních prostředků, které budou složité děje simulovat, či animovat<sup>3,4</sup>. Jedním z vizualizačních prostředků, které se dají za tímto účelem použít, jsou výukové animace, popř. výuková videa<sup>5</sup>.

Dalším faktorem, který může podpořit výuku biochemie, je mezipředmětové pojetí učiva. V momentě, kdy jsou jednotlivé informace o mnohdy komplexních přírodních dějích podávány souhrnně (např. z chemického, biologického i fyzikálního pohledu), může si žák vytvořit přesnější, jasnější a trvalejší mentální model daného děje<sup>6</sup>.

Z výše uvedeného vyplývá, že jednou z možností, jak zvýšit efektivitu výuky přírodovědných předmětů a zároveň motivovat žáky k jejich studiu, je využívání didaktických mezipředmětových vizualizačních prostředků. Těmito mohou být právě interdisciplinární animace či videa<sup>7</sup>.

### 3. Představení mezipředmětových animací pro výuku biochemie

Z výše uvedených důvodů autoři příspěvku společně se svými studenty již více jak 15 let vytváří mezipředmětově koncipované dynamické vizualizace, které byly/jsou vytvářeny v dřívějších i nejnovějších verzích programu Adobe Animate CC s podporou programovacího jazyka ActionScript či JavaScript. Vytvořené animace (ve formě animací či videí) včetně doprovodných výukových materiálů lze nalézt na webové stránce [www.studiumbiochemie.cz](http://www.studiumbiochemie.cz)<sup>8</sup> v sekcích Biochemie – základní kapitoly a Biochemie – mezioborová témata. Animace (popř. videa) byly vytvořeny s cílem zefektivnit výuku biochemie na středních školách gymnaziálního typu či školách s chemickým zaměřením, popř. na školách vysokých. Všechny animace doprovází psané, popř. mluvené komentáře, které vysvětlují děje, jež jsou právě animované. Taktéž byl ke všem animačním souborům sepsán rozšiřující studijní text, který děje dovysvětluje či rozšiřuje. Témata byla zpracována nejen s důrazem na dynamickou vizualizaci, ale též na mezipředmětové pojetí. Biologická složka se zabývá především anatomií a fyziologií trávicí či dýchací soustavy, popisem a charakteristikami jednotlivých buněčných organel a prostředí, ve kterém se procesy odehrávají. Chemická složka je zaměřena na principy biochemických pochodů, na chemické složení jednotlivých látek a z něho vyplývajících vlastností. Velký důraz je kladen i na lokalizaci biochemických procesů v buňce.

V následujících kapitolách 3.1. až 3.5. je detailněji představeno pět souborů výukových animací včetně interdisciplinárního charakteru zpracovaných biochemických témat. Taktéž je detailněji uvedeno jejich pojetí v českém kurikulu – Rámcových vzdělávacích programech pro základní i gymnaziální vzdělávání (RVP ZV, cit.<sup>9</sup> a RVP G, cit.<sup>10</sup>).

#### 3.1. Trávení a trávicí soustava člověka

Výukový program s názvem Trávení a trávicí soustava člověka se skládá celkem z 26 dílčích na sebe navazujících animací, které popisují osud přijaté potravy (konkrétně hamburgeru) během trávení (obr. 1). Děj první animace se odehrává v ústní dutině, kde dochází ke žvýkání potravy za účasti slin a některých enzymů. Následující animace, které znázorňují osud potravy včetně trávicích procesů, ke kterým dochází v trávicí soustavě člověka. Poslední animace popisuje procesy, které vedou k vyloučení nestrávených složek potravy.

Téma trávení v lidském organismu je ukázkovým příkladem tématu, které propojuje učivo biologie a chemie, uplatňují se zde mezipředmětové vztahy, a zároveň je to téma, se kterým se v určitých obměnách, ať už ve spojitosti s příjmem potravy a jejím mechanickým a chemickým zpracováním, vstřebáváním živin z potravy či vylučováním nestrávených zbytků, všichni dennodenně setkáváme. Průnik odhaluje i RVP G, kdy v rámci chemie má žák charakterizovat základní metabolické procesy a jejich vý-

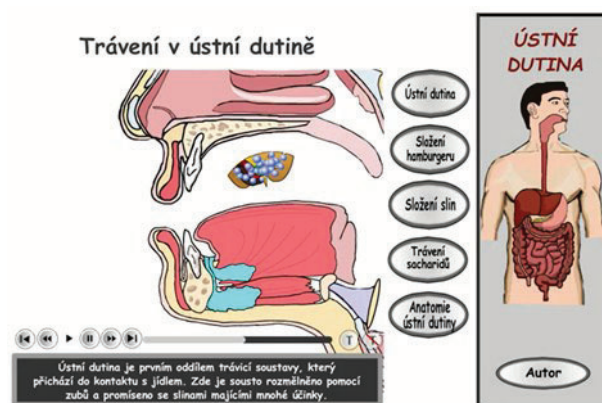
znam či objasnit strukturu a funkci sloučenin nezbytných pro důležité chemické procesy probíhající v organismech<sup>10</sup>. V biologii pak žák využívá znalosti o orgánových soustavách pro pochopení vztahů mezi procesy probíhajícími v lidském těle<sup>10</sup>, což souvisí i s očekávaným výstupem definovaným pro oblast člověk a zdraví, aby žák dodržoval správné stravovací návyky a v rámci svých možností uplatňoval zásady správné výživy a zdravého stravování<sup>9</sup>.

Učivo o trávení a trávicí soustavě prochází zejména biologii po celou školní docházku, neboť téma trávicí soustavy se promítá v biologii živočichů, biologii člověka a také v základech ekologie, kde je požadováno, aby žáci vysvětlili podstatu jednoduchých potravních řetězců v různých ekosystémech a zhodnotili jejich význam.

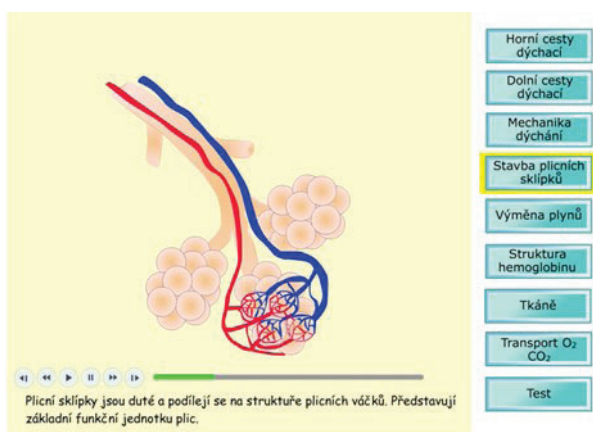
#### 3.2. Dýchání a dýchací řetězec

Výukový program Dýchání a dýchací řetězec je tvořen celkem 23 animacemi (obr. 2). Vzniklé výukové animace propojují učivo celého procesu dýchání. Na základě animací by si měl žák uvědomit, k čemu konkrétně organismus využívá kyslík. Žák by tak měl získat celistvý pohled na proces dýchání a cestu kyslíku včetně zahrnutí dýchacích cest, transportu kyslíku a jeho konečného využití v buňkách. Animace jsou rozděleny do dvou setů. První část se zabývá dýchací soustavou, druhá část je úzce zaměřena na biochemické procesy, které se odehrávají v dýchacím řetězci. Mezi oběma částmi je však plynulý přechod, což vede k tomu, že oba děje (transport kyslíku do buňky a jeho následné využití v buňce) jsou vzájemně propojené a nejsou představeny izolovaně, jak tomu bohužel v učebnicích chemie a biologie je.

Poměrně komplexní problematika volá po propojení obsahu učiva z biologie a chemie. Možnost propojení je zakotvena i v základoškolských kurikulárních dokumentech (RVP ZV), kdy je v rámci biologie definován výstup: „Žák využívá znalosti o orgánových soustavách pro po-



Obr. 1. Výukový program Trávení a trávicí soustava. (Barevná verze obrázku je dostupná na webových stránkách časopisu Chemické listy).

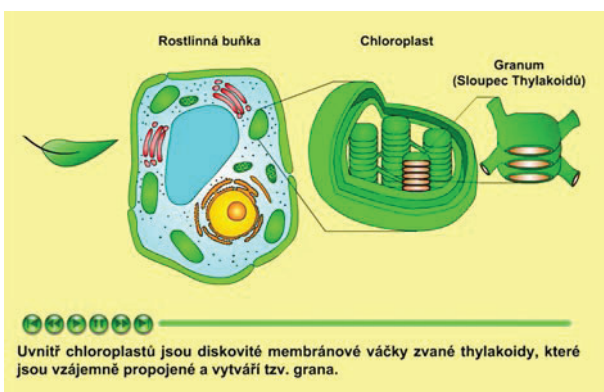


Obr. 2. Výukový program **Dýchání a dýchací řetězec**. (Barevná verze obrázku je dostupná na webových stránkách časopisu Chemická listy).

chopení vztahů mezi procesy probíhajícími v lidském těle“ a v rámci chemie pak zmíněná rozsáhlá část věnovaná chemickým reakcím. Po žácích je požadováno, aby rozlišili výchozí látky a produkty chemických reakcí, provedli jejich klasifikaci, zhodnotili jejich využívání a v neposlední řadě aplikovali poznatky o faktorech ovlivňujících průběh chemických reakcí<sup>9</sup>. V rámci RVP G pak část věnovaná přímo biochemii uvádí, aby žáci objasnili strukturu a funkci sloučenin nezbytných pro důležité chemické procesy probíhající v organismech či charakterizovali základní metabolické procesy a jejich význam<sup>10</sup>. Výše zmíněné zastřešuje požadavek prolínající se oběma předměty, aby žáci využívali odbornou terminologii při popisu látek a vysvětlování chemických dějů<sup>10</sup>.

### 3.3. Fotosyntéza

Výukový program Fotosyntéza se skládá celkem z 13 animací. První animace začíná průřezem listu a následným postupným „zoomováním“, kdy se žák dostá-



Obr. 3. Výukový program **Fotosyntéza**. (Barevná verze obrázku je dostupná na webových stránkách časopisu Chemická listy).

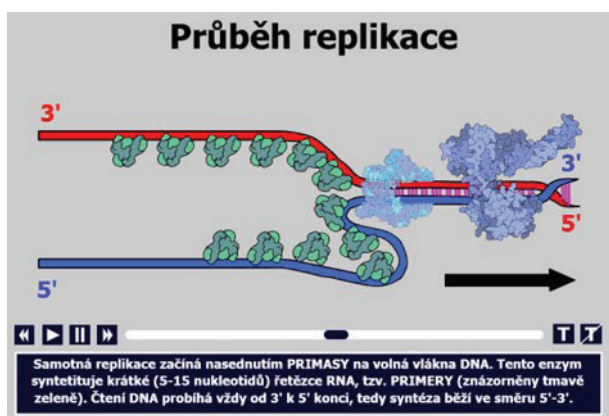
vá až do chloroplastu, resp. k průřezu thylakoidní membránou (obr. 3). Následně jsou detailně animovány biochemické pochody primární i sekundární fáze fotosyntézy, tedy od dopadu fotonu do reakčního centra přes syntézu ATP a NADPH a jejich následné využití při syntéze molekuly glukosy. Během vytváření animací byl kladen důraz na zaznamenání fotosyntetických pochodů včetně propojení na fotofosforylaci (tvorbu ATP) takovým způsobem, aby při prezentaci tématu vznikalo co nejméně miskoncepcí. Též je poukazováno na to, že elektrony nemohou „skákat“ z jednoho přenašeče na druhý skrze buněčné struktury, ale že vždy dochází k přenosu elektronu v důsledku kolize mezi těmito dvěma přenašeči<sup>11</sup>.

Fotosyntéza představuje kritické místo již ve výuce přírodopisu. Vzhledem k biochemické povaze tohoto děje je fotosyntéza ve výuce na základní škole spíše jen zmiňována, stručně vysvětlena a žáci ji obvykle příliš dobře nerozumí<sup>12</sup>. Pro žáky 6. ročníku je to biochemický proces obtížně představitelný a pochopitelný bez znalostí chemie, která v šesté třídě ve školním kurikulu obvykle není zahrnuta. Vzhledem k chemické povaze tohoto děje a obtížné představitelnosti by pro výuku tématu byl vhodnější pozdější ročník než šestý. Na střední škole se žáci často setkávají s fotosyntézou již v prvním ročníku v předmětu biologie, avšak v chemii se tomuto tématu věnují až ve vyšších ročnících, což velmi komplikuje výuku. Ve výuce lze tedy představené animace využít a podpořit tak interdisciplinární charakter tématu. Dle požadavků RVP se pokrývá očekávaný výstup z biologie, kdy je po žácích požadováno, aby objasnili stavbu a funkci strukturních složek a životní projevy prokaryotních a eukaryotních buněk<sup>10</sup>, a zároveň z chemie, kdy mají žáci využívat odbornou terminologii při popisu látek a vysvětlování chemických dějů, orientovat se ve výchozích látkách a produktech fotosyntézy a koncových produktech biochemického zpracování, především bílkovinách, tucích, sacharidech či v neposlední řadě určit podmínky postačující pro aktivní fotosyntézu<sup>10</sup>.

### 3.4. Nukleové kyseliny, replikace a proteosyntéza

Výukový program Nukleové kyseliny, replikace a proteosyntéza je tvořen celkem z 18 dílčích animací (obr. 4). První animace jsou zaměřeny na složení eukaryotické buňky, buněčného jádra a jaderné membrány. Další tři animace jsou věnované složení nukleových kyselin. Další animace jsou zaměřené na replikaci, transkripci a translaci (celkem 10 animací). Poslední dvě animace jsou věnované vysvětlení metody PCR (polymerase chain reaction), která se do povědomí širší veřejnosti dostala především díky tzv. PCR testování na přítomnost koronavirusů.

Nukleové kyseliny se ve výuce na základní a střední škole využívají jak v předmětu chemie, tak v předmětu biologie. Naplnění očekávaných výstupů se odráží v požadavku, že žák objasní strukturu a funkci sloučenin nezbytných pro důležité chemické procesy<sup>10</sup>. V hodinách biologie se s termíny běžně pracuje zejména v tematické věnované genetice. Animace využívá znalosti o genetic-

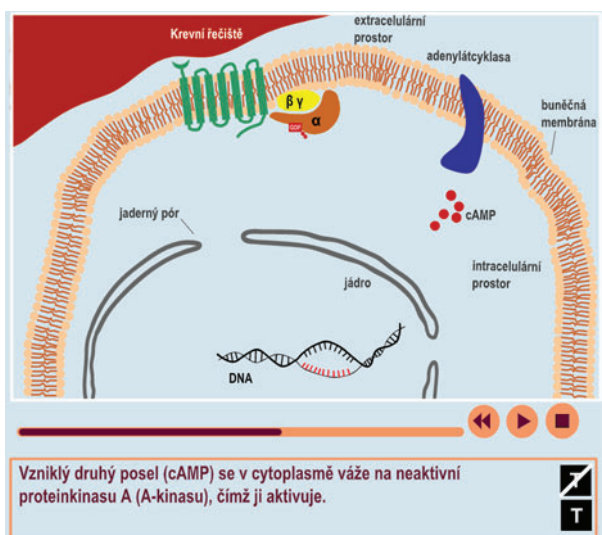


Obr. 4. Výukový program Nukleové kyseliny, replikace a proteosyntéza. (Barevná verze obrázku je dostupná na webových stránkách časopisu Chemické listy).

kých zákonitostech pro pochopení rozmanitosti organismů a žák tak analyzuje možnosti využití znalostí z oblasti genetiky v běžném životě<sup>10</sup>.

### 3.5. Buněčná signalizace

Výukový program Buněčná signalizace se skládá ze tří animací, které ilustrují tři významné typy (mezi)buněčné komunikace: endokrinní signalizaci prostřednictvím lipofilních hormonů, endokrinní signalizaci prostřednictvím hydrofilních hormonů a signalizaci nervovou (obr. 5). V jednoduchém modelu buňky jsou pak prezentovány jednotlivé signalizační dráhy, ke kterým dochází (od vstupu hormonu/neurotransmiteru do buňky až po např. expresi genu).



Obr. 5. Výukový program Buněčná signalizace. (Barevná verze obrázku je dostupná na webových stránkách časopisu Chemické listy).

Animace je podpořená studijním textem pro žáky a zároveň je materiál doplněn o didaktické poznámky. Ty jsou uváděny včetně rozšiřujících informací, které si učitel může upravit dle intenzity mezioborového přesahu a podrobností učebního obsahu, které se žáky bude ve třídě fixovat.

Téma buněčná signalizace není v RVP explicitně zmíněno. Nicméně v oboru chemie i v oboru biologie lze najít očekávané výstupy, které jsou s tímto tématem propojeny. V oboru chemie popisuje dokument v části biochemie požadavek, aby žák objasnil strukturu a funkci sloučenin nezbytných pro důležité chemické procesy probíhající v organismech<sup>10</sup>, což se prolíná s výstupem, kterým žák charakterizuje základní metabolické procesy a jejich význam<sup>10</sup>. Pro obor biologie pak v části obecné biologie dokument deklaruje výstup, kdy má žák objasnit stavbu a funkci strukturních složek a životní projevy prokaryotních a eukaryotních buněk<sup>9</sup>, což je v rámci dané problematiky spojeno s molekulární biologii, potažmo s biochemií.

## 4. Navrhované metody výuky s využitím výše uvedených vizualizačních pomůcek

V současné době mnoho odborníků<sup>13,14</sup> hlásá nutný přechod od tradičních metod výuky (např. výklad) k metodám a formám výuky atraktivnějším pro žáky a ve výsledku i pro učitele. Z toho důvodu kapitola představuje návrhy didaktických metod, které mohou výuku s využitím dynamické vizualizace zefektivnit. Autoři příspěvku dále v textu zmiňují konkrétně pět metod s cílem aktivizovat žáky.

Jedním ze způsobů, které lze s podporou výše uvedených animací využít, je *vrstevnické vyučování*, kdy si žáci navzájem mohou, ať už při párově koncipované skupinové výuce, či kooperativně vedené vícečlenné skupinové výuce, navzájem vysvětlovat a upevňovat terminologii. Učitel může např. rozdat lístky s biochemickými termíny a žáci losováním termínu z hromádky konstruují definice dané terminologie za použití animací, čímž si upevňují myšlenkovou základnu k ukotvení probíraného tématu.

Další metodou, kterou lze při výuce biochemických témat uplatnit, je *převrácená výuka (flipped classroom)*. Jedná se o metodu integrovaného učení, při níž dochází k obrácení úloh učitele a žáka. Mění se tak role učitele (ten není hlavním zdrojem informací, ale stává se spíše průvodcem napříč vzdělávacím procesem), neboť žáci se učí doma (s podporou podpůrných výukových materiálů často dostupných online – animace, videa, studijního textu apod.), úkoly pak zpracovávají ve škole<sup>15</sup>. Autoři článku se domnívají, že tento způsob výuky je dobré využívat především u starších žáků (vyšší ročníky střední školy). Benefity pramenící z této metody lze nalézt zejména v tom, že žák přebírá odpovědnost za své učení a jeho efektivitu. Učivo z animací/videí se ve škole dále prohlubuje a fixuje<sup>16</sup>. Předkládané výukové animace (s doprovodnými studijními texty) mohou být optimálním nástro-

jem, jak si žáci mohou učivo osvojit a ve škole pod vedením učitele dále prohlubovat.

Další možností je *vytváření schématu*, kdy sami žáci na základě animace mohou buď jednotlivě, či ve skupině vytvořit schémata parafrázující cestu přenosu, např. informace mezi jednotlivými biopolymery. V principu si upevní učivo a vytvoří přepis mezi nukleovými kyselinami a následný překlad z RNA do struktury proteinu/ů. To lze aplikovat již v prvním ročníku čtyřletého studia na SŠ, kdy není nezbytný zevrubný popis nukleových kyselin. Obdobně lze praktikovat i u ostatních témat zmíněných v kap. 3.

Mezi velmi efektivní metody výuky patří i metoda tzv. *němého videa* (resp. *němé animace*). Během této metody, při které je ve videu/animaci vypnutý psaný i mluvený komentář, se žáci sami pokouší k videu/animaci vytvořit doprovodný text. Je vhodné pracovat ve dvojici či v menších skupinách a následně si své doprovodné komentáře sdílet mezi skupinami s cílem vytvořit komentář nejvíce videu/animaci adekvátní.

Další metodou může být metoda *práce s textem ANO/NE/NEVÍM*. Žáci před animací/videem dostanou seznam tvrzení, u kterých mají posoudit, zda je tvrzení pravdivé, nepravdivé, popř. že neví. Po projití animace/videa své stanovisko mohou poupravit či opravit tvrzení nepravdivá.

## 5. Ověření vybraných materiálů ve školní praxi

Animace Fotosyntéza, Dýchací řetězec a Trávení v lidském organismu byly předmětem didaktického výzkumu, jehož cílem bylo zjistit vliv těchto animací na žákovu vnitřní motivaci a na úroveň dosažených znalostí v daném tématu. Výzkumné šetření probíhalo ve školním roce 2018/2019 a 2019/2020 (před uzavřením škol) a celkově se jej zúčastnilo 159 žáků nižšího i vyššího stupně gymnázia.

Z výsledků vyplynulo, že použití animací ve výuce má významný pozitivní vliv na tři sledované složky vnitřní motivace. Konkrétně žáci, kteří se zúčastnili výuky s podporou animací, projeví vyšší zájem o výuku tématu, mnohem více si uvědomovali své schopnosti a významně více si uvědomovali užitečnost probírané látky než žáci, kteří byli vyučováni bez podpory animací. Na druhou stranu nebyl zaznamenán vliv animací na úsilí žáka. Co se týče vlivu animací na dosažené znalosti žáků, bylo prostřednictvím znalostních pretestů a retenčních testů prokázáno, že animace měly středně silně pozitivnější vliv na dosažení lepších výsledků v retenčních testech u žáků experimentální skupiny (výuka s používáním animací) než u žáků skupiny kontrolní (výuka bez používání animací). Výsledky poukazují na důležitost vizualizací (v tomto případě animací) a mezipředmětových prvků při výuce složitých biochemických dějů, jakými jsou právě fotosyntéza či procesy odehrávající se při trávení či metabolismu složek potravy<sup>17</sup>.

## 6. Závěr

V článku bylo detailněji představeno 5 souborů animací, které se zaměřují na výuku biochemických dějů s důrazem na jejich mezipředmětový charakter. Vzhledem k tomu, že realizované výzkumné šetření prokázalo, že animace jsou při výuce biochemických témat podstatnou pomůckou, která usnadňuje žákovu pochopení probírané látky a též mají kladný vliv na vnitřní motivaci žáků, lze animace s mezipředmětovým charakterem doporučit pro využití při výuce biochemie na středních školách. Všechny animace (popř. odkazy na videa a další doprovodné materiály) jsou volně přístupné jak žákům/studentům, tak jejich vyučujícím na webových stránkách [www.studiumbiochemie.cz](http://www.studiumbiochemie.cz) (cit.<sup>8</sup>).

*Článek byl sepsán s podporou projektu COOPERATIO v oblasti Subject Specific Education Research uděleného Univerzitou Karlovou.*

## LITERATURA

1. Ikwuka O. I., Samuel N. N. C.: *Journal of Emerging Trends in Educational Research and Policy Studies* 8, 98 (2017).
2. Jenkinson J.: *J. Mol. Biol.* 430(21), 4013 (2018). doi: 10.1016/j.jmb.2018.08.020.
3. Nodzyńska M.: *Chem. Listy* 106, 519 (2012).
4. Barak M., Ashkar T., Yehudit J. Dori: *Comput. Educ.* 56, 839 (2011).
5. Teplá M., Teplý P., Šmejkal P.: *Int. J. STEM Educ.* 9, 65 (2022).
6. Arnold J.: *Middle School Journal* 28(3), 51 (1997).
7. Šarboch D.: *Vliv animací na motivaci a studijní výsledky žáků ve výuce přírodovědných předmětů. Diplomová práce*. Univerzita Karlova, Praha 2022.
8. <http://www.studiumbiochemie.cz>, staženo 9. 12. 2022.
9. <https://www.edu.cz/rvp-ramcove-vzdelavaci-programy/ramcove-vzdelavaci-programy-programy-gymnazia-rvp-g/>, staženo 9. 12. 2022.
10. [https://www.npi.cz/images/RVP\\_ZV\\_2017.pdf](https://www.npi.cz/images/RVP_ZV_2017.pdf), staženo 9. 12. 2022.
11. Teplá M., Klímová H.: *J. Chem. Educ.* 91(1), 149 (2014). doi: 10.1021/ed300213h.
12. Vágnerová P., Benediktová L., Kout J.: *Arnica* 8(1), 56 (2018).
13. Novelli E. L. B., Fernandes A. A. H.: *Biochem. Mol. Biol. Educ.* 35, 263 (2007).
14. Rajsiglová I., Poneszová V.: *Project-based education and other student-activation strategies and issues in science education XIX, 4-5 November 2021, Prague, Czech Republic (Rusek M., Tóthová M. ed.)*, str. 105, Praha 2022.
15. Mok H. N.: *Journal of Information Systems Education* 25(1), 7 (2014).

16. Tůma J.: <https://spomocnik.rvp.cz/clanek/19531/jak-na-metodu-prevracene-tridy.html>, staženo 14. 12. 2022.
17. Šarboch D., Teplá M.: *Project-based education and other student-activation strategies and issues in science education XIX, 4-5 November 2021, Prague, Czech Republic* (Rusek M., Tóthová M. ed.), str. 145, Praha 2022.

**D. Šarboch<sup>a</sup>, M. Teplá<sup>a</sup>, and I. Rajsiglová<sup>b</sup>**  
(<sup>a</sup>*Department of Teaching and Didactics of Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague,* <sup>b</sup>*Department of Biology Education, Faculty of Science, Charles University, Prague*): **How to Teach Biochemistry? In an Interdisciplinary Way and with the Support of the Dynamic Visualization!**

The article presents the importance of dynamic visualization and interdisciplinarity in teaching of biochemistry. Five teaching sets, intended to support the teaching of biochemistry at high schools, are presented in more detail. The effectiveness of selected animations was monitored in school practice through a pedagogical research, which was carried out in 2019 and 2020. The results of the research showed that the use of animations in teaching of biochemical topics has a positive effect on the internal motivation of students and also a significant positive effect on the acquired knowledge.

Keywords: biochemistry education, visualization, animation, interdisciplinarity

*Acknowledgements*

*The support of the project COOPERATIO in the field of Subject Specific Education Research awarded by Charles University is gratefully acknowledged.*

# 75. ZJAZD CHEMIKOV

4. – 8. septembra 2023, Vysoké Tatry

<https://75zjazd.schems.sk>



Miesto konania:

## GRAND HOTEL BELLEVUE

Horný Smokovec 21  
062 01 Vysoké Tatry  
Slovenská republika

Dôležité termíny:

**30. jún** Koniec registrácie  
**30. jún** Posledný termín platby  
**30. jún** Nahratie abstraktov

## Súťaže

### Cena Marty Sališovej

Cenu Marty Sališovej udeľuje Slovenská chemická spoločnosť a je určená doktorandom a mladým vedeckým pracovníkom do 30 rokov, ktorí sú členmi Slovenskej chemickej spoločnosti alebo Českej chemickej spoločnosti. Témy súťažiacich prác môžu byť zo všetkých oblastí chémie v súlade s odbornými sekciami zjazdu. Vybraných 10 prác bude prezentovaných v súťažnej sekcii a prvé tri miesta sú ocenené diplomom a aj finančne ohodnotené.

### IUPAC poster award

Ocenenie IUPAC v podobe diplomu a finančnej poukážky sa udeľuje PhD. študentovi a mladému vedeckému pracovníkovi do 35 rokov za najlepšiu posterovú prezentáciu.

**Ceny dekanov fakúlt s chemickým zameraním a rektorov pre najlepšie prezentácie študentov v posterovej sekcii**



---

**OBSAH****ÚVODNÍK**

**Chemické společnosti (jejich časopisy),  
Open Access a transformační smlouvy** 345

J. Jirát a E. Dibuszová

**Umělá inteligence píše pro Chemické listy** 346

B. Kratochvíl

**REFERÁTY**

**O halucinogenním oříšku v naší kuchyni** 348

M. Jurášek a P. Drašar

**Námraza jako relevantní součást atmosférické  
depozice v horských oblastech** 352

I. Hůnová

**Využití moderních metod pro stanovení  
rezistence k antibiotikům** 358

M. Šolcová a S. Purkrťová

**Izolácia prírodných zlúčenín s organo-  
leptickými vlastnosťami použitím vybraných  
pokročilých extrakčných techník** 365

V. Výbohová a K. Hroboňová

**PŮVODNÍ A METODICKÉ PRÁCE**

**Syntéza a elektrochemické vlastnosti elektrolytů  
na bázi fosfoniových, sulfoniových  
a imidazoliových iontových kapalin pro použití  
v lithium-iontových bateriích** 373

B. Galajdová, J. Žitka, L. Pavlovec, O. Trhlíková,  
J. Kredatusová a R. Konefal

**VÝUKA CHEMIE**

**Jak učit biochemii? Mezipředmětově  
a s podporou dynamické vizualizace!** 384

D. Šarboch, M. Teplá a I. Rajsiglová

---

**CONTENTS****EDITORIAL**

**Chemical Societies (Their Journals), Open Access  
and Transformation Contracts** 345

J. Jirát and E. Dibuszová

**Artificial Intelligence Writes for Chemické Listy** 346

B. Kratochvíl

**REVIEW ARTICLES**

**About Hallucinogenic Nut in our Kitchen** 348

M. Jurášek and P. Drašar

**Rime as a Relevant Part of Atmospheric  
Deposition in Mountain Regions** 352

I. Hůnová

**Application of Modern Methods for  
the Determination of Antibiotic Resistance** 358

M. Šolcová and S. Purkrťová

**Isolation of Natural Compounds with  
Organoleptic Properties Using Selected  
Advanced Extraction Techniques** 365

V. Výbohová and K. Hroboňová

**ORIGINAL AND METHODOLOGICAL PAPERS**

**Synthesis and Electrochemical Properties  
of Electrolytes Based on Phosphonium, Sulfonium  
and Imidazolium Ionic Liquids for Li-ion batteries** 373

B. Galajdová, J. Žitka, L. Pavlovec, O. Trhlíková,  
J. Kredatusová, and R. Konefal

**EDUCATION IN CHEMISTRY**

**How to Teach Biochemistry?** 384

**In an Interdisciplinary Way and with  
the Support of the Dynamic Visualization!**

D. Šarboch, M. Teplá, and I. Rajsiglová

# Odborná skupina termické analýzy České společnosti chemické



pořádá

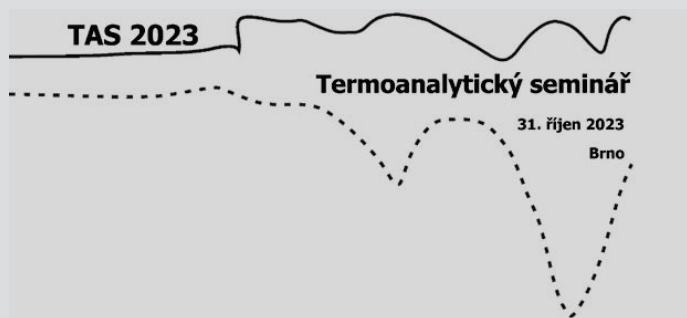
## TERMOANALYTICKÝ SEMINÁŘ

31. říjen 2023

Ústav fyziky materiálů AVČR, v.v.i,  
Brno

Další informace: <http://www.thermal-analysis.cz>

Kontakt na organizátory: [petra.sulcova@upce.cz](mailto:petra.sulcova@upce.cz)



**CHEMICKÉ LISTY** • ročník/volume 117 (2023), čís./no. 6 • **LISTY CHEMICKÉ**, roč./vol. 147, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 133 • 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 • REDAKTOŘI/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 REDAKTOŘI/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA, ČR) • 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, 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](mailto: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](mailto:chem.spol@csvts.cz), [chem.ekonom@csvts.cz](mailto: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 © 2023 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 180 Kč, roční plné předplatné 2023 (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 zaslány zdarma všem individuálním a kolektivním členům ČSCH a ČSPCH v ČR i zahraničí, do všech relevantních knihoven v ČR a významným představitelům české chemie a chemického průmyslu; v rámci dohod o spolupráci i členům dalších odborných společností • Molekulární námět na obálce: V. Spiwook • Dáno do tisku 26.5.2023.

# SU X ESS

## Přepisuje nejlepší výsledky ve své třídě

Nový IRXross je FTIR střední třídy, který dosahuje výsledků o třídy lepších přístrojů. Napříč širokému spektru vzorků dosahuje vysoké rychlosti a rozlišení měření, což zajišťuje vysokou kvalitu při udržení nízké ceny analýz. Integrovaný operační systém zajišťuje jednoduché ovládání přístroje. Užitím příslušenství je možné ušetřit až 90% energie v pohotovostnímu režimu.

**Špičková citlivost ve své třídě s poměrem S/N 55 000:1.**

**Vysokorychlostní měření 20krát za sekundu s volitelným softwarem pro rychlé skenování.**

**Rychlé spuštění a snadná navigace pomocí softwaru IRPilot™.**

[www.shimadzu.eu/suxess](http://www.shimadzu.eu/suxess)



**ANALYTICAL  
INTELLIGENCE**

Nový IRXross: Zjistěte si více o nejlepším výkonu za nejlepší cenu!



# charge forward

Discover the next chapter in PAGE performance with mPAGE® bis-tris electrophoresis.

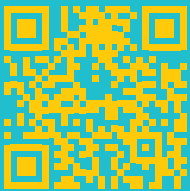
Bis-Tris gel technology offers numerous advantages compared to traditional acrylamide gels for SDS-PAGE applications, including faster run times, sharper band resolution and neutral operating pH which leads to longer gel shelf life and promotes protein stability during the run.

mPAGE® complete, but open product range includes:

- mPAGE® TurboMix Bis-Tris Gel Casting Kit
- mPAGE® Bis-Tris Precast Gels
- mPAGE® Bis-Tris Precast Gels Trial Kits
- mPAGE® Bis-Tris Sample and Running Buffers
- mPAGE® Gel Caster
- mPAGE® Mini Gel Tank
- mPAGE® Mini Wet Transfer System
- mPAGE® Power Supplies
- mPAGE® Protein Standards

Learn more:

[SigmaAldrich.com/bis-tris](https://SigmaAldrich.com/bis-tris)



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

**Millipore®**

Preparation, Separation, Filtration & Monitoring Products