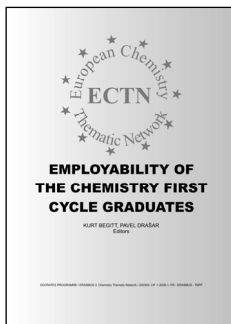


Vyhledky chemických bakalářů na možnost zaměstnání

Vyhledky nových bakalářů na možnost zaměstnání („zaměstnatelnost“) jsou v současné době předmětem soustředěného studia řady institucí a organizací. Dne 23. června 2009 uzavřelo státní závěrečnou zkouškou a obhajobou bakalářské práce své bakalářské studium na Vysoké škole chemicko-technologické v Praze prvních 12 absolventů bakalářského studia chemie nesoucího prestižní známku kvality „Eurobakalář“. Taková známka kvality může v budoucnosti znamenat mnoho nejen pro další studium, ale i pro možnost vstupu na trh práce.



Známka kvality Eurobakalář, nebo též obecně „EuroLabel“, je vstupenkou do přijímacího řízení na všech univerzitách, které takovou známku již mají. Dosud bylo uděleno 48 známek „Eurobachelor“ a 24 „Euromaster“ 39 institucím a 3 univerzitním konsorciím ze 16 evropských zemí. Zámka znamená, že absolvent studia s touto známkou z cizí univerzity musí být podle podepsané dohody brán do

přijímacího řízení stejně, jako absolvent podobného studia na univerzitě domácí. V České republice se touto známkou kvality honosí pouze studijní obory na VŠCHT Praha a na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy v Praze.

Známka kvality Eurobakalář je však též podle Margit Austerbeckové-Martinové¹ v některých zemích a u řady zaměstnavatelů významným atributem, který přispívá ke zvýšení pravděpodobnosti zaměstnání uchazeče. Má to svoje důvody, protože zaměstnavatelé, podle výše zmíněné studie, nemají zájem o specializované absolventy s hlubokými ale omezenými znalostmi, ale zejména o absolventy, kteří prošli výchovou ve všech základních disciplínách chemie a mají dobře zažitá základní znalosti a dovednosti, zejména pak praktické laboratorní dovednosti, schopnost přemýšlet o chemii v kontextu společnosti, firmy ale i životního prostředí, a pod., jsou kreativní a flexibilní, dokáží zacházet s informacemi, schopni pracovat samostatně a zodpovědně, schopni pracovat v týmu, schopni učit se a v neposlední řadě schopni prakticky používat komunikační schopnosti v jazyce vlastním a navíc v jazyce světovém. U bakalářů se však v pořadí důležitosti jeví jako nejpodstatnější ona základní znalost chemie, schopnost se učit, komunikace v mateřském jazyce a schopnost pracovat v týmu. Ostatní dovednosti mohou absolventi získat postupně během praxe.

Co z toho plyne pro (naše) vysoké školy a akreditační komise? Pokud někdo učí budoucí chemické bakaláře, je vhodné, když během tříletého studia absolvují cosi, co lze nazvat „základní kurs chemie“, ke kterému jsou ostatní požadované studijní výsledky připojeny sérií vhodných kurzů, seminářů a podobně. Už vidím některé kolegy (a setkal jsem se s tím například na italských univerzitách, abych nepopudil) jak říkají: „Jak mám svoji chemii organických sloučenin gadolinia, kterou učím deset semestrů a stejně nestihnu všechno probrat, vtěsнат do tří let? To je nesmysl, to není vysoká škola!“. Omyl. Takový kolega je sice de iure učitelem, ale není pedagogem. Pedagog ví, že děti na základní škole těžko pochopí problematiku interakcí, při kterých se uplatní Rydbergovy orbitály, ale že je třeba je naučit, proč je voda za normálních podmínek tekutá, proč je fenol nazýván kyselina karbolová, ale i jak to, že se cukr dobře rozpouští ve vodě a proč běžné železné předměty rezaví, ale i jak se nabírá kyselina pipetou. Pedagog to ví i proto, protože, když to studenty naučí, povětšinou se pak již nikdy nepřidají k „zeleninovým bojovníkům“ nebo „matkám odněkud“ a nebudou bojovat za to, aby naše potraviny již nikdy neobsahovaly chemické látky. Takového absolventa pak rády zaměstnají firmy, protože má kvalitní základní přípravu a to, co ve firmě potřebují speciálního, to ho za půl roku naučí. A že to jde, o tom mne vždy a vždy přesvědčoval můj „staříčkový učitel“ Josef Pacák, jehož teninké učebnice^{2,3} kdyby uměli všichni absolventi vysokých škol na konci studia chemie nazpaměť, uměli by prostě organickou chemii. A tak to je⁴.

Domnívám se proto, že pedagogický proděkan, který má takovou cestu částí života naší mládeže na starosti, by měl alespoň jednou za kariéru vidět jak požadavky „EuroLabels“, tak požadavky evropských zaměstnavatelů¹; již proto, že knížka je k dispozici volně na URL www.ectn.net.

LITERATURA

1. *Employability of the Chemistry First Cycle Graduates* (Begitt K., Drašar P., ed.). ECTN & ČSCH, Prague and Frankfurt 2009.
2. Pacák J.: *Jak porozumět organické chemii*. Karolinum, Praha 2007.
3. Pacák J.: *Reakce organických sloučenin*. Karolinum, Praha 2007.
4. Drašar P.: Chem. Listy 103, 371 (2009).

Pavel Drašar

NITRACE PROTEINŮ REAKTIVNÍMI FORMAMI DUSÍKU

IVETA HNÍZDOVÁ, LENKA LUHOVÁ
a MAREK PETŘIVALSKÝ

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

Došlo 29.1.09, přijato 12.3.09.

Klíčová slova: nitrace proteinů, nitrotyrosin, nitrační činidla, reaktivní formy dusíku

Obsah

1. Úvod
2. Mechanismus nitrace proteinů
 - 2.1. Nitrační činidla *in vivo*
 - 2.2. Přístupnost proteinů k posttranslační modifikaci a selektivita nitrace
 - 2.3. Reverzibilita nitrace a odbourávání nitrovaných proteinů
3. Význam nitrace proteinů
 - 3.1. Specifické nitrace proteinů v mitochondriích
 - 3.2. Vztah nitrace a fosforylace v signálních drahách buněk
 - 3.3. Nitrace proteinů při patologických stavech
4. Metody analýzy nitrovaných proteinů
5. Závěr

1. Úvod

Posttranslační kovalentní modifikace ovlivňují a kontrolují strukturu, funkci, buněčnou lokalizaci a odbourávání proteinů. Mezi nejznámější a nejlépe prostudované posttranslační modifikace proteinů patří *N*- a *O*-glykosylace, fosforylace a methylace lysinů, výzkumy posledních let však ukazují na významnou úlohu celé řady dalších kovalentních modifikací proteinů jako acetylace, sulfatace, isoprenylace, ubikvitinace, sumoylace, glutationylace, citrulinace a polyglutamylace^{1,2}. Významná role byla také prokázána u nitračních a nitrosačních modifikací, při kterých reakce reaktivních forem dusíku (RNS) s postranními řetězci proteinových aminokyselin vede k jejich nitraci, nitrosylaci a oxidaci. Nejvíce prozkoumané reakce *in vivo* představují nitrace tyrosinu za vzniku 3-nitrotyrosinu a nitrosylace thiolových skupin cysteinů na *S*-nitrosocystein. V prvotních fázích studia byly tyto posttranslační modifikace považovány za vedlejší produkt nadměrné a nekont-

rolované produkce RNS při určitých patologických stavech buněk. Dnes však aktuální znalosti jasně prokazují, že za normálních podmínek je nitrace bílkovin v biologických systémech regulována jako selektivní proces, kdy dochází ke kontrolované modifikaci malé skupiny proteinů pouze na jednom nebo omezeném počtu proteinových tyrosinů^{3,4}.

Navázáním nitroskupiny na tyrosin často dochází ke změně konformace modifikovaných proteinů a následnému ovlivnění biologické aktivity proteinů. Vnesení nitroskupiny do *ortho*-polohy vzhledem k hydroxyly na benzenovém jádře také významně snižuje možnost fosforylace tyrosinu, což ovlivňuje rychlost přenosu informace v mnoha signálních drahách založených na regulaci aktivity enzymů reverzibilní fosforylací.

Vedle regulační funkce za fyziologických podmínek byla potvrzena souvislost zvýšené nitrace proteinů s celou řadou patologických procesů následkem zvýšené produkce RNS. Detekce nitrovaných proteinů může vést k rychlé diagnostice různých onemocnění, neboť vyšší hladina nitrotyrosinu byla prokázána v časných i pokročilých stádiích kardiovaskulárních a neurodegenerativních chorob^{5,6}.

2. Mechanismus nitrace proteinů

2.1. Nitrační činidla *in vivo*

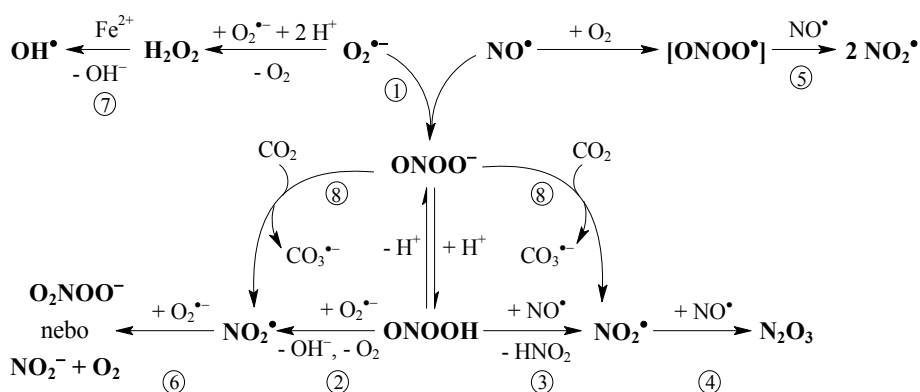
Na nitraci proteinů se do značné míry společně podílí reaktivní formy dusíku a kyslíku, jejichž vzájemnými reakcemi vzniká řada nitračních činidel způsobujících specifickou nitraci aminokyselinových zbytků, případně při zvýšené produkci nitračních činidel tzv. nitrosační stres^{4,5}. Mezi nejvýznamnější nitrační činidla *in vivo*, které mohou nitrovat volně i v proteinech vázané aminokyseliny, patří oxid dusnatý (NO) a dusičitý (NO₂), peroxydusitan (ONOO⁻) a sloučeniny odvozené od dusitanu (tab. I, obr. 1).

Podle současných poznatků probíhá nitrace proteinů nejpravděpodobněji působením peroxydusitanu a hemové peroxidasy, které se podílejí na vzniku vysoce reaktivního nitračního činidla NO₂. Byly však popsány i jiné mechanismy vzniku nitračních činidel, např. rozklad dusitanů hemoproteiny s pseudoperoxidasovou aktivitou nebo přímo reakce radikálu NO s tyrosylovými radikály. Významný vliv na tvorbu nitračních činidel má současná tvorba NO a superoxidu v blízkých buněčných oddílech^{4,7} (obr. 1).

Nejvýznamnější nitrační činidlo *in vivo*, peroxydusitanový anion ONOO⁻, vzniká nejenom reakcí radikálu oxidu dusnatého (NO[•]) a superoxidového anionradikálu (O₂^{•-}), ale může vzniknout také redukcí nitrosyldioxylového radikálu (ONOO[•]) superoxidem nebo reakcí nitrosylo-

Tabulka I
Přehled nejvýznamnějších nitračních činidel *in vivo*

Název	Vzorec	Mechanismus nitrace tyrosinu	Příklad nitrovaného proteinu
Oxid dusnatý	NO•	radikálový	prostaglandinsynthasa
Oxid dusičitý	NO ₂ •	radikálový	sérový albumin
Peroxydusitan	ONOO ⁻	radikálový elektrofilní substituce	cytochrom c
Kyselina dusitá	HNO ₂	radikálový	sérový albumin
Nitrylchlorid	NO ₂ Cl	radikálový	sérový albumin



Obr. 1. **Reakce mezi superoxidem a oxidem dusnatým.** 1) Hlavním produktem reakce ekvivalentního množství NO• a O₂^{•-} je peroxydusitan. 2) a 3) Při mírném nadbytku jednoho z reaktantů vzniká NO₂•. 4) Vyšší nadbytek NO vede ke vzniku N₂O₃. 5) Při vysoké koncentraci NO a O₂ dochází k autooxidaci NO. 6) Jestliže koncentrace O₂^{•-} převažuje nad NO•, vzniká peroxydusičan nebo dusitan. 7) Při nadbytku O₂^{•-} dochází ke vzniku OH• a následnému vyvolání oxidativního stresu. 8) Vysoká koncentrace CO₂ způsobuje vznik NO₂• (upraveno podle cit.⁷)

vého aniontu (NO⁻) s molekulárním kyslíkem. Za fyziologického pH existuje peroxydusitan v protonované formě jako kyselina peroxydusitá, která se rozkládá na hydroxylový radikál (HO•) a oxid dusičitý NO₂• (cit.⁸).

Mezi charakteristické reakce těchto nitračních činidel s proteiny patří nitrace tyrosinu, kdy dochází k navázání nitroskupiny v *ortho*-poloze aromatického kruhu této aminokyseliny (obr. 2). Peroxydusitan se podílí také na vzniku jiných kovalentních modifikací proteinů, zahrnujících nitraci tryptofanu za vzniku 6-nitrotryptofanu, případně jeho oxidaci za vzniku *N*-formylkynureninových residuí, ale mechanismus a význam těchto modifikací je ve srovnání s nitrací tyrosinu nepříliš objasněn⁹.

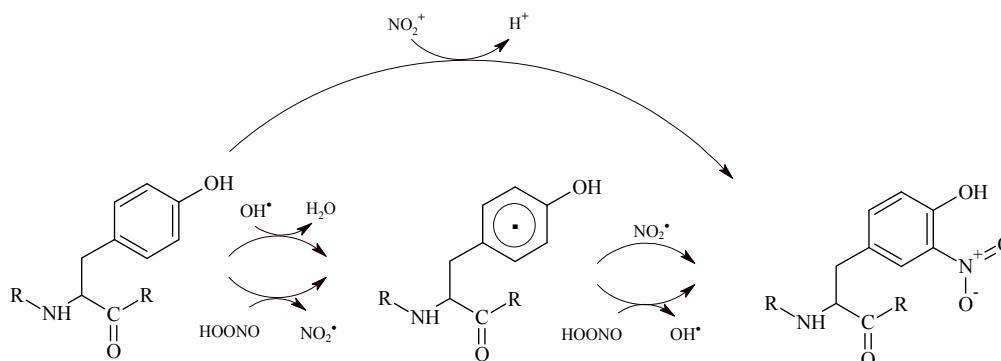
Zvýšený výskyt nitrovaných tyrosinových residuí byl zaznamenán v přítomnosti oxidu uhličitého. Reakcí peroxydusitanu s CO₂ vzniká nitrosoperoxykarbonát, který se rozpadá opět za vzniku reaktivního oxidu dusičitého.

Vznik vysoce reaktivního nitračního činidla NO₂• může být také enzymově katalyzován peroxidasou (EC 1.11.1.-) v přítomnosti dusitanů. Hemové peroxidasy katalyzují redukci peroxidu vodíku a organických peroxidů a zároveň oxidaci organických sloučenin, anorganických

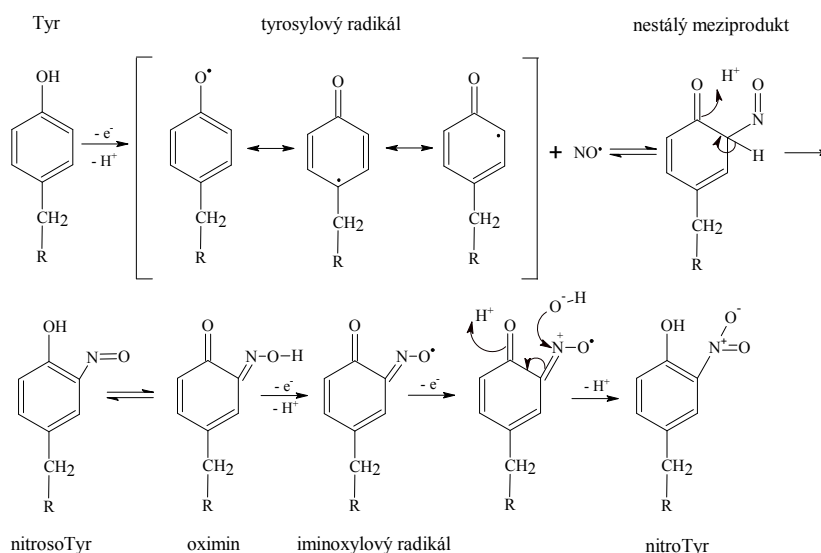
aniontů a halogenidů. V přítomnosti dusitanu a peroxidu vodíku katalyzují nitraci proteinů díky oxidaci dusitanu a tyrosinu na NO₂ a tyrosylový radikál. Reakce těchto dvou radikálů vede k tvorbě nitrotyrosinu (nitroTyr), což může být inhibováno katalasou a azidem. Radikál tyrosinu může být také tvořen reakcí tyrosinu s jinými radikály jako NO₂•, CO₃^{•-} nebo OH•.

Další možnou cestou nitrace proteinů je neenzymový rozklad dusitanů v prostředí se sníženým pH. Při hodnotě pH < 6,0 vzniká ve zvýšené míře kyselina dusitá (HNO₂), která kromě nitrace tyrosinů velmi ochotně reaguje i s lysinovými, histidinovými a argininovými residuí¹¹. Také reakcí dusitanu s kyselinou chlornou (HOCl) vznikají potenciální nitrační, oxidační a chlorační činidla. *In vitro* bylo zjištěno, že mezi takové látky patří NO₂Cl, který je schopen nitrovat tyrosinová residua v hovězím sérovém albuminu. Rovněž toto nitrační činidlo reaguje i s jinými aminokyselinovými residuí jako Cys, Met a Trp (cit.¹²).

Nitrotyrosin také vzniká v souvislosti s výskytem tyrosylového radikálu v proteinech, vznikajícího jednoelektronovou redukcí tyrosinu jako intermediátu metabolických drah^{5,13}. Předpokládá se, že prvním produktem reakce



Obr. 2. Schéma vzniku nitroTyr reakcí peroxydisitanu s tyrosinovým residuem; PN může podléhat heterolytickému štěpení katalyzovanému kovy za vzniku elektrofilního činidla NO_2^+ nebo reaguje přímo s tyrosinem radikálovým mechanismem (upraveno podle cit.¹⁰)



Obr. 3. Mechanismus vzniku nitroTyr reakcí NO s tyrosylovým radikálem; upraveno podle cit.¹³

NO s tyrosylovým radikálem je po reverzibilní radikálové reakci 3-nitrosotyrosin, který se může rozkládat zpět na tyrosylový radikál a NO. 3-Nitrosotyrosin se nachází v tautomerní rovnováze s oximinovou formou, která může být oxidována jedním elektronem za vzniku iminoxylového radikálu. Jednoelektronovou oxidací iminoxylového radikálu s následným odštěpením vodíkového protonu vzniká nitroTyr (obr. 3).

Tyrosylové radikály jsou součástí katalytického místa nebo kofaktoru řady enzymů např. ribonukleotidreduktasy (EC 1.17.4.1), prostaglandinsynthasy (EC 1.14.99.1) a fotosystému II. Bylo prokázáno, že tyrosylový radikál v ribonukleotidreduktase působí jako lapač NO *in vivo* za současné reverzibilní inhibice tohoto enzymu.

2.2. Přístupnost proteinů k posttranslační modifikaci a selektivita nitrace

Nitrace proteinů je selektivní modifikace. Selektivita se vztahuje na nitraci některých proteinů a na modifikaci určitých tyrosinových residuí. Existují tři hlavní faktory ovlivňující selektivitu nitrace: blízkost proteinů k místu tvorby nitračních činidel, množství proteinu a tyrosinových residuí a primární sekvence v okolí tyrosinu¹¹.

Proteiny, které se vyskytují ve vyšších koncentracích, jsou dobrými cíli pro modifikaci RNS, nicméně ani větší množství proteinu ani vysoký počet tyrosinových residuí není určujícím faktorem pro vznik nitroTyr. Příkladem může být albumin, protein hojně se vyskytující v krevní

plasmě, který může být nitrován vznikajícími RNS. Množství nitrovaných tyrosinových residuí je ale daleko menší než u jiných proteinů krevní plasmy¹⁵. Jestliže je protein lokalizován v blízkosti místa vzniku nitračních činidel, bude se s vysokou pravděpodobností nitrovat. U řady buněčných modelů byla prokázána prostorová asociace myeloperoxidasy a nitrovaných proteinů¹⁶.

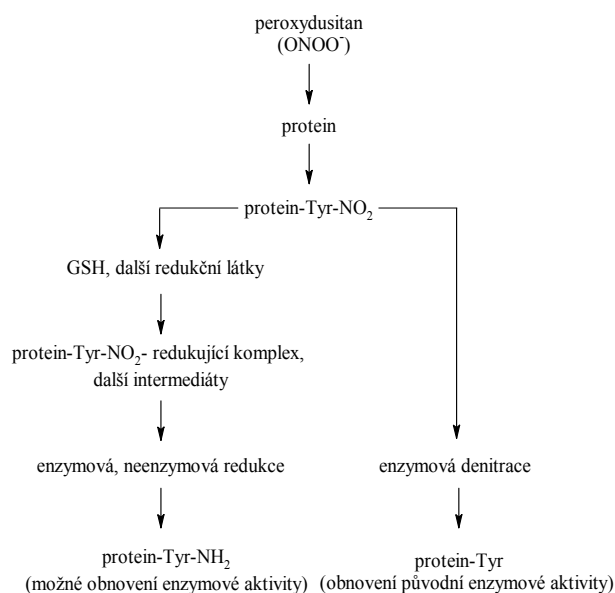
Jeden z možných mechanismů specifické nitrace je založen na její katalýze kovem v aktivním místě proteinu. Např. peroxydusitan může proniknout do aktivního místa Cu, Zn nebo Mn-superoxiddismutasy, kde reaguje s kovovým centrem enzymu za tvorby nitračních činidel v blízkosti tyrosinových residuí vzdálených od povrchu proteinu¹⁷. Selektivní nitrace tyrosinových residuí může být pravděpodobně řízena podobným mechanismem jako fosforylace a sulfonace. Kritickým faktorem pro selektivní fosforylaci tyrosinu je přítomnost specifické proteinové sekvence, která je rozpoznána tyrosinkinase. Tyrosinkinasa rozpoznává sekvenční motiv [K/R]-X-X-X-[D/E]-X-X-X-Y, kde X je libovolná aminokyselina. Sulfotransferasa nevyžaduje přítomnost specifického peptidu, ale na aminokyselině předcházející Tyr musí být negativní náboj. Další podmínkou pro sulfonaci je absence sterické zábrany. Při nitraci jsou Cys a Met alternativními cíly pro nitrační činidla a mohou působit jako limitující faktory pro nitraci blízkých tyrosinů. Blízká lokalizace disulfidových můstků je sterickou zábranou pro sulfonaci a zřejmě i nitraci tyrosinu^{18,19}.

2.3. Reverzibilita nitrace a odbourávání nitrovaných proteinů

Nitrace proteinů nastává za normálních fyziologických podmínek a ovlivňuje funkci mnoha proteinů. Aby mohla být nitrace považována za regulační mechanismus biologické aktivity proteinů, je nutná existence mechanismů zaručujících reverzibilitu této kovalentní modifikace. Analogicky s aktivitou fosfatas byla navržena možnost katalýzy denitrační reakce specifickým enzymem denitrasou (nitratasou). Denitrace proteinových nitrotyrosinů by měla hypoteticky vést k obnově tyrosinu a odštěpení dusičnanového aniontu²⁰. Přítomnost denitrasové aktivity byla detegována v krevní plasmě²¹, slezině a plicích²². Jako jediný potenciální substrát denitrazy *in vivo* byl doposud identifikován histon H 1.2 (cit.²³) a identita a reakční mechanismus enzymu zatím zůstává neznámou.

Pro odstranění nitrovaných proteinů mohou biologické systémy využívat kromě denitrace i takové mechanismy, které přemění nitrotyrosin na aminotyrosin, což může vést k návratu aktivity některých proteinů a buněčné obnově (obr. 4). Redukcí nitroskupiny na aminoskupinu dochází ke zvýšení pK_a na hodnotu 10, což může obnovit přístupnost proteinů pro působení tyrosinkinasy^{21,24}.

U většiny nitrovaných proteinů je ale upřednostňována jejich proteolytická degradace, která oproti nemodifikovaným proteinům probíhá rychleji. Urychlená degradace lehce oxidovaných proteinů je normální funkcí buňky, ale u silně nitrovaných a oxidovaných proteinů dochází k tvorbě proteinových agregátů, které jsou špatnými substráty proteas a účinnost odbourávání je tak snížena⁵.



Obr. 4. Schéma vzniku nitrovaných proteinů a jejich metabolismu denitrací nebo redukcí; upraveno podle cit.²⁴

3. Význam nitrace proteinů

Oxidativní, zánětlivé, mutagení a cytotoxické vlastnosti peroxydusitanu jsou odlišné v porovnání s převážně antioxidantními a protizánětlivými vlastnostmi jeho prekursoru NO. Toxicita peroxydusitanu souvisí nejen s modifikací proteinů, ale také peroxidací lipidů a poškozením nukleových kyselin. Za normálních fyziologických podmínek je však peroxydusitan vychytáván většinou nízkomolekulárními antioxidanty. Pro působení peroxydusitanu v buňkách je významná jeho hydrofobicita, díky které může procházet lipidovými membránami a zprostředkovávat nitraci v hydrofobním prostředí, buněčných membránách, organelách a lipoproteinech²⁵.

3.1. Specifická nitrace proteinů v mitochondriích

K nitraci proteinů dochází synergickým působením reaktivních forem kyslíku a dusíku vznikajících ve zvýšené míře při mitochondriální respiraci. Komplexy I a III respiračního řetězce produkují superoxid jako vedlejší produkt redoxních pochodů. Tento děj nastává v případě, jestliže redukováné formy flavinů, Fe-S center nebo semibichinolové radikály reagují s molekulárním kyslíkem. Za patologických podmínek dochází v mitochondriích snadno k tvorbě peroxydusitanu kvůli zvýšené syntéze NO a superoxidu. NO může být vytvořen přímo v mitochondriích, kde je přítomná specifická mitochondriální forma NO syntázy, nebo může do této organely vstupovat z cytosolu²⁶.

V mitochondriích peroxydusitan způsobuje inhibici energetického metabolismu, narušení distribuce vápníku a otevření póru permeability mitochondriální membrány. Peroxydusitan také poškozuje mitochondrie modifikací

DNA a lipidů a účastní se tak pochodů vedoucích k buněčné smrti²⁷. Působení peroxydusitanu bylo studováno na enzymové úrovni u komplexu I, II, III a ATPasy. Bylo zjištěno, že peroxydusitan způsobuje úplnou inhibici komplexu I, II a ATPasy, částečnou inhibici komplexu IV a má malý vliv na aktivitu komplexu III. Protože každý z těchto komplexů obsahuje řadu tyrosinů a cysteinů, ovlivnění jejich aktivity je spojeno s reaktivitou jednotlivých residuí a jejich účastí v enzymové funkci. Bylo zjištěno, že ireverzibilní inhibice komplexu I je způsobena specifickou modifikací tyrosinových residuí. Ačkoliv komplex I obsahuje 45–46 různých podjednotek, byla nalezena modifikace tyrosinu pouze u pěti z nich, přičemž dvě z nich se přímo účastní enzymové funkce²⁸.

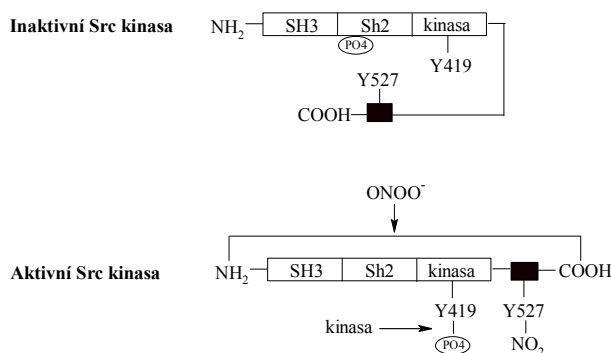
Za podmínek rychlé tvorby ROS a NO také dochází k nitraci Mn-superoxiddismutasy a cytochromu c, který se v mitochondrii vyskytuje ve vysoké koncentraci. Nitrace cytochromu c může sloužit jako marker mitochondriálního poškození nitračním stresem a je součástí signálního mechanismu vedoucího k aktivaci kaspas a zahájení buněčné apoptozy²⁹.

3.2. Vztah nitrace a fosforylace v signálních drahách buněk

Nitrace tyrosinu způsobuje snížení pK_a hydroxylové skupiny z 10,1 na 7,2, což může vést ke změně struktury a funkce proteinů. Následkem této modifikace dochází nejčastěji ke snížení aktivity nebo biologické funkce proteinů, ale v některých případech se může enzymová aktivita zvýšit nebo funkce daného proteinu nemusí být vůbec ovlivněna. Jedním z biologických procesů, které nitrace často ovlivňuje, je fosforylace tyrosinových zbytků⁵. Nitrace a fosforylace tyrosinových residuí mohou být navzájem kompetitivními procesy v závislosti na lokální koncentraci RNS. Bylo zjištěno, že tyrosinová fosforylace je odpovědí na mírné oxidující podmínky vyvolané peroxydusitanem. Tento děj nastává, jestliže je koncentrace peroxydusitanu v buňce mikromolární. Pokud je hladina peroxydusitanu milimolární, je znemožněna tyrosinová fosforylace, dochází k nitraci tyrosinových residuí a následně k inhibici buněčných odpovědí závislých na fosforylaci tyrosinu a zahájení apoptické kaskády³⁰.

Nitrace inhibuje cyklickou přeměnu tyrosinových residuí proteinů signálních drah mezi fosforylovaným a nefosforylovaným stavem. Návazáním nitroskupiny na tyrosin může dojít k zabránění jeho fosforylace, např. u cyklindependentní kinasy (EC 2.7.11.1) nebo je znemožněno spojení podjednotek proteinu, který poté zůstává inaktivní, např. nitrace regulační podjednotky p85 enzymu inositol-3-kinasy (EC 2.7.1.64) inhibuje její spojení s katalytickou podjednotkou p110 (cit.^{15,21}). Dalším dějem, který mění stav tyrosinových zbytků v signálních kaskádách, je inhibice fosfatasové aktivity, čímž dochází k narušení regulace přenosu signálu v buňce následkem zvýšené fosforylace tyrosinů.

Nitrace v některých případech může simulovat fosforylaci, protože tato modifikace vede k přidání negativního



Obr. 5. Nitrace a fosforylace tyrosinových residuí u Src kinasy; upraveno podle cit.³²

náboje s podobnou elektronovou hustotou. Vliv nitrace tyrosinových residuí na aktivitu proteinů byl zjištěn u Src kinasy (EC 2.7.10.2), kdy nitrace tyrosinových residuí v Src kinase může regulovat jejich aktivitu. Nitrace tyrosinu 527 v C-koncovém regulačním regionu Src kinasy vede k destabilizaci uzavřené inaktivní formy, následně fosforylaci tyrosinu 419 lokalizovaného v kinasové doméně a přechodu na aktivní formu enzymu^{31,32} (obr. 5).

3.3. Nitrace proteinů při patologických stavech

Současné poznatky ukazují na přímou souvislost mezi zvýšeným oxidativním a nitračním stresem a iniciací a rozvojem některých důležitých patologických procesů. Zvýšená nitrace je způsobena zvýšenou tvorbou reaktivních nitračních činidel, často spojená se zvýšenou aktivitou indukovatelné formy NO synthasy. Současně jsou pozorovány snížená kapacita detoxifikačních systémů, které za normálních podmínek udržují nízkou hladinu oxidáčních a nitračních činidel, a snížená aktivita systémů odbourávajících nitrované proteiny^{4,11}. Zvýšená nitrace proteinů doprovází proces stárnutí organismu a rozvoj řady degenerativních chorob jako Parkinsonova, Alzheimerova a Huntingtonova choroba a amyotrofní laterální skleróza, kde je možno imunohistochemickými metodami prokázat zvýšené množství nitrovaných proteinů lokalizovaných v postižených tkáních nervové soustavy³³. V případě dopaminergních neuronů postižených při Parkinsonově chorobě byla prokázána specifická oxidace a nitrace několika proteinů, které vedou ke změně jejich biologické aktivity a ovlivňují postup a rozvoj neurodegenerativní choroby⁶. Peroxydusitan je považován za důležitého činitele rozvoje také dalších poruch v kardiovaskulárním, dýchacím a imunitním systému. Snížení hladiny peroxydusitanu s využitím specifických lapačů, jako např. kyseliny močové, představuje do budoucna slibný farmakologický postup při léčbě těchto chorob³⁴. Nitrované proteiny jsou detegovány v mnoha tkáních i za nepatologických podmínek, např. v kardiovaskulárním systému, myocytech, endoteliálních buňkách a fibroblastech⁵. Úloha nitrovaných proteinů za fyziologických podmínek není ale dosud zcela objasněna.

4. Metody analýzy nitrovaných proteinů

Analýza nitrovaných proteinů je založena na specifické detekci nitrotyrosinové skupiny s využitím imunochemických nebo hmotnostně-spektrometrických metod. Zvláštní pozornost je potřeba věnovat přípravě analyzovaného vzorku, protože výskyt nitrotyrosinu může být výrazně zvýšen *in vitro* vznikem nitračních činidel při rozkladu dusitanů v kyselém prostředí, např. během kyselého hydrolyzy proteinů nebo při použití kyselých mobilních fází při kapalinové chromatografii. Naopak často používané silně redukující látky v extračních pufrech, jako např. dithiothreitol, mohou vést k redukci nitroskupiny na aminoskupinu³⁵.

Imunochemické metody využívají komerčně dostupné polyklonální a monoklonální protilátky proti proteinově vázanému nitrotyrosinu. Monoklonální protilátky na nitrotyrosin se obecně vyznačují vyšší specifitou, ale slabší imunoreaktivitou. Imunochemická detekce nitroTyr může být snížena, pokud během zpracování vzorku dochází k jeho přeměně na aminotyrosin nebo tyrosin, které nejsou primárními protilátkami rozpoznávány³⁶. Pro kvantifikaci nitrovaných proteinů ve vzorku mohou být použita různá uspořádání metod ELISA nebo separační metody jedna a dvourozměrné gelové elektroforézy s následným blotováním proteinů na teflonovou či nitrocelulosovou membránu a jejich detekci anti-nitroTyr protilátkami. Vzhledem k omezené specifitě imunohistochemické detekce je možno přítomnost nitrovaných proteinů ve vzorku následně potvrdit hmotnostní spektrometrií³⁷.

Identifikace nitrovaných proteinů se provádí hmotnostní spektrometrií, přičemž nejčastěji používanou metodou je kapalinová chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií nebo MALDI-TOF analýza^{38,39}. Identifikace proteinů se potvrzuje srovnáním naměřených hmotností tryptických peptidů s daty v dostupných databázích. Při analýzách nitrace se využívá typického nárůstu hmotnosti tryptických štěpů peptidů obsahujících nitrované tyrosiny o 45 Da odpovídajících přidané nitroskupině. Využití MALDI-TOF MS pro identifikaci nitrovaných proteinů je značně omezeno, neboť při ionizačním procesu dochází k fotodekompozici nitroTyr, která je způsobena ztrátou jednoho nebo dvou kyslíkových atomů. Proto jsou v hmotnostním spektru zaznamenány menší píky ve srovnání s intaktním peptidem, který je používán jako vzor pro rozpoznání peptidů s nitroTyr⁴⁰.

Vzhledem ke zmíněným nevýhodám při analýze MALDI-TOF MS je vhodnější LC-MS analýza. Tryptické štěpy jsou obvykle separovány na kapilární koloně s reverzní fází, ionizovány elektrosprejem a v detektoru analyzovány tandemovou hmotnostní spektrometrií. Identifikace nitrovaných peptidů může být při chromatografické separaci navíc podpořena jejich specifickou detekcí při 340 nm. Úspěšnost identifikace nitrovaných tyrosinů v jednotlivých proteinech i jejich komplexních směsích lze dále zvýšit redukcí nitroskupiny na aminoskupinu a její acetylací, které zvyšují fragmentaci tryptických peptidů při disociaci indukované kolizí a tím i úspěšnost identifikace peptidů v databázích proteinových sekvencí⁴¹.

5. Závěr

Nitrace tyrosinu je důležitou posttranslační modifikací proteinů, při níž s aminokyselinovými zbytky reagují nitrační činidla. Mezi nejvýznamnější patří oxid dusnatý, oxid dusičitý, peroxydusitan a látky odvozené od dusitanu. Tyto sloučeniny reagují s tyrosinem za vzniku nitroTyr. Míra nitrace proteinů je v biologických systémech citlivě regulována. Navázáním na nitroskupiny na tyrosin se může měnit konformace modifikovaných proteinů. Tato modifikace tedy v některých případech slouží k regulaci enzymové aktivity a přenosu signálu v buňce. Poznatky o identitě, lokalizaci, funkci a mechanismu vzniku nitrovaných proteinů jsou známy pouze u živočichů, zatímco u rostlin je tato problematika teprve v počátcích.

Tato práce byla podpořena výzkumným záměrem MSM 6198959215.

Seznam zkratk

nitroTyr	3-nitrotyrosin
NO	oxid dusnatý
RNS	reaktivní formy dusíku
ROS	reaktivní formy kyslíku

LITERATURA

- Jensen O. N.: *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 7, 391 (2006).
- Hoffman M. D., Sniatynski M. J., Kast J.: *Anal. Chim. Acta* 627, 50 (2008).
- Rubbo H., Radi R.: *Biochim. Biophys. Acta* 1780, 1318 (2008).
- Souza J. M., Peluffo G., Radi R.: *Free Radical Biol. Med.* 45, 357 (2008).
- Turko I. V., Murad F.: *Pharmacol. Rev.* 54, 619 (2002).
- Danielson S. R., Andersen J. K.: *Free Radical Biol. Med.* 44, 1787 (2008).
- Frein D., Schildknecht S., Bachschmid M., Ullrich V.: *Biochem. Pharmacol.* 70, 811 (2005).
- Goldstein S., Merenyi G.: *Methods Enzymol.* 436, 49 (2008).
- Suzuki T., Mower H. F., Friesen M. D., Gilibert I., Sawa T., Ohshima H.: *Free Radical Biol. Med.* 37, 671 (2004).
- Sarver A., Scheffler N. K., Shetlar M. D., Gibson B. W.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 12, 439 (2001).
- Ischiropoulos H.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 305, 776 (2003).
- Ischiropoulos H.: *Arch. Biochem. Biophys.* 356, 1 (1998).
- Gunther M. R., Sturgeon B. E., Mason R. P.: *Toxicology* 177, 1 (2002).
- Guittet O., Roy B., Lepoivre M.: *Cell. Mol. Life Sci.* 55, 1054 (1999).
- Souza J. M., Daikhin E., Yudkoff M., Raman C. S.,

- Ischiropoulos H.: Arch. Biochem. Biophys. 371, 169 (1999).
16. Baldus S., Eiserich J. P., Brennan M. L., Jackson R. M., Alexander C. B., Freeman B. A.: Free Radical Biol. Med. 33, 1010 (2002).
 17. Ischiropoulos H., Zhu L., Chen J., Tsai M., Martin J. C., Smith C. D., Beckman J. S.: Arch. Biochem. Biophys. 298, 431 (1992).
 18. Alvarez B., Ferrer-Sueta G., Freeman B. A., Radi R.: J. Biol. Chem. 274, 842 (1999).
 19. Lin H. L., Kent U. M., Zhang H. M., Waskell L., Hollenberg P. F.: Chem. Res. Toxicol. 16, 129 (2003).
 20. Kuo W. N., Kanadia R. N., Shanbhag V. P., Toro R.: Mol. Cell. Biochem. 201, 11 (1999).
 21. Gow A. J., Duran D., Malcolm S., Ischiropoulos H.: FEBS Lett. 385, 63 (1996).
 22. Kamisaki Y., Wada K., Bian K., Balabanli B., Davis K., Martin E., Behbod F., Lee Y. C., Murad F.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95, 11584 (1998).
 23. Irie Y., Saeki M., Kamisaki Y., Martin E., Murad F.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 100, 5634 (2003).
 24. Kuo W. N., Kocis J. M.: Mol. Cell. Biochem. 233, 57 (2002).
 25. Zhang H., Bhargava K., Keszler A., Feix J., Hogg N., Joseph J., Kalyanaraman B.: J. Biol. Chem. 278, 8969 (2003).
 26. Brown G. C., Borutaite V.: Cardiovasc. Res. 75, 283 (2007).
 27. Radi R., Cassina A., Hodara R., Quijano C., Castro L.: Free Radical Biol. Med. 33, 1451 (2002).
 28. Murray J., Taylor S. W., Zhang B., Ghosh S. S., Capaldi R. A.: J. Biol. Chem. 278, 37223 (2003).
 29. Cassina A. M., Hodara R., Souza J. M., Thomson L., Castro L., Ischiropoulos H., Freeman B. A., Radi R.: J. Biol. Chem. 275, 21409 (2000).
 30. Klotz L. O., Schroeder P., Sies H.: Free Radical Biol. Med. 33, 737 (2002).
 31. Mallozzi C., Di Stasi, A. M. M., Minetti M.: FEBS Lett. 503, 189 (2001).
 32. Monteiro H. P., Klotz L. O., Schroeder P., Sies H.: Free Radical Biol. Med. 33, 765 (2002).
 33. Beal M. F.: Klotz L. O., Schroeder P., Sies H.: Free Radical Biol. Med. 32, 797 (2002).
 34. Pacher P., Beckman J. S., Liaudet L.: Physiol. Rev. 87, 315 (2007).
 35. Moore K. P., Mani A. R.: Methods Enzymol. 359, 256 (2002).
 36. Frost M. T., Halliwell B., Moore K. P.: Biochem. J. 345, 453 (2000).
 37. Viera L., Ye Y. Z., Estevez A. G., Beckman J. S.: Methods Enzymol. 301, 373 (1999).
 38. Aslan M., Ryan T. M., Townes T. M., Coward L., Kirk M. C., Barnes S., Alexander C. B., Rosenfeld S. S., Freeman B. A.: J. Biol. Chem. 278, 4194 (2003).
 39. Miyagi M., Sakaguchi H., Darrow R. M., Yan L., West K. A., Aulak K. S., Stuehr D. J., Hollyfield J. G., Organisciak D. T., Crabb J. W.: Mol. Cell. Proteomics 1, 293 (2002).
 40. Petersson A. S., Steen H., Kalume D. E., Caidahl K., Roepstorff P.: J. Mass Spectrom. 36, 616 (2001).
 41. Ghesquiere B., Goethals M., Van Damme J., Staes A., Timmerman E., Vandekerckhove J., Gevaert K.: Rapid Commun. Mass Spectrom. 20, 2885 (2006).

I. Hnízdová, L. Luhová, and M. Petřivalský
(Department of Biochemistry, Faculty of Science, Palacký University, Olomouc, Czech Republic): Protein Nitration by Reactive Nitrogen Species

Protein nitration and nitrosylation have recently emerged as important post-translational modifications of proteins. This review summarizes the current knowledge of nitration of tyrosine residues in proteins and the sources, fates and roles of nitrated proteins *in vivo*. Tyrosine residues are nitrated to 3-nitrotyrosine residues by reactive compounds like nitric oxide, nitric dioxide, peroxynitrite and nitrite metabolites as well as by other reactive nitrogen and oxygen species. Peroxynitrites are probably the most important nitration agents *in vivo*, though other nitrations have also been described. The introduced nitro group influences pK_a of the tyrosine residue and its accessibility to phosphorylation as well as protein structure, stability and biological activity. The enhanced nitration of proteins is a consequence of a higher production of reactive nitrogen and oxygen species and/or their lower scavenging. Nitrated proteins are observed in many cardiovascular, neurodegenerative and inflammatory pathologies. The nitrated proteins can be detected by immunohistochemical methods *in situ* or detected and identified by chromatography and mass spectrometry.

POTENCIOMETRICKÉ SENZORY ZALOŽENÉ NA VODIVÝCH POLYMERECH: PŘÍPRAVA, MECHANISMUS ODEZVY A APLIKACE

GABRIELA BRONCOVÁ, TATIANA
V. SHISHKANOVA, MARTIN KRONĎÁK,
RADKO VOLF a VLADIMÍR KRÁL

Ústav analytické chemie, Fakulta chemicko-inženýrská,
VŠCHT, Technická 5, 166 28 Praha 6
Gabriela.Broncova@vscht.cz

Došlo 17.7.08, přepracováno 20.2.09, přijato 2.3.09.

Klíčová slova: vodivý polymer, mechanismus odezvy,
potenciometrický senzor, elektroda, aplikace

Obsah

1. Úvod
2. Příprava a vlastnosti polymerních filmů
3. Mechanismus potenciometrické odezvy vodivých polymerů
4. Aplikace potenciometrických pH senzorů na bázi vodivých polymerů

1. Úvod

Vznik nových chemických senzorů umožňujících snadné analýzy v rozličných oblastech každodenního života je podmíněn nalezením nových materiálů pro molekulární rozpoznávání i přenos signálu. Vodivé polymery, nejčastěji nanášené na podkladovém materiálu ve formě filmu, jsou jednou z perspektivních skupin látek, které jsou díky rozmanitým chemickým a fyzikálním vlastnostem široce používané v chemických senzorech a celé řadě dalších aplikací.

Nejjednoduššími senzory jsou vodivými polymery potažené indierentní elektrody používané pro potenciometrická či vodivostní měření. Podmínkou pro vytvoření selektivního receptoru na bázi vodivého polymeru je, aby monomer obsahoval polymerizovatelné i rozpoznávací jednotky a zároveň byl stabilní při podmínkách přípravy. Vodivé polymery mohou fungovat jako iontové nebo elektronové vodiče díky tomu, že oxidovaná centra polymeru nesou kladné náboje, které jsou kompenzovány protiionty z roztoku elektrolytu použitého při jejich přípravě. Velikost a pohyblivost dopujícího aniontu ovlivňuje mechanické i elektrochemické vlastnosti filmů.

Příprava, vlastnosti, mechanismus odezvy a aplikace vodivých polymerů jako potenciometrických iontových senzorů jsou shrnuty v následujícím textu.

2. Příprava a vlastnosti vodivých polymerů

Polymerní film je nanášen na povrch elektrody, která je ponořena do roztoku obsahujícího vhodný monomer. Monomery musí obsahovat skupiny, které jsou schopny oxidace či redukce za tvorby polymeru. Ve většině případů probíhá příprava polymerů v oxidačním režimu, tj. elektrochemickou anodickou oxidací^{1,2}, redukční katodická elektropolymerace je používána zřídka. Dále je možná chemická polymerace za použití oxidačních činidel, např. peroxodisíranu³ či dichromanu draselného, chloridu železitého i jiných. Elektrochemická oxidace je vhodnější než chemická, protože pevněji zakotví polymer na elektrodovém povrchu, navíc umožňuje řídit rychlost tvorby polymeru a jeho tloušťku.

Elektrochemická oxidace aromatických látek vede k tvorbě elektricky vodivých filmů, jejichž vodivost je způsobena přítomností dlouhých řetězců konjugovaných dvojných vazeb (střídání jednoduchých a dvojných vazeb), které umožňují snadný pohyb elektronů. Dalším důležitým předpokladem elektrické vodivosti vodivých polymerů je přítomnost nosičů náboje, které zprostředkovávají jeho transport po řetězci. Nosiče náboje vznikají procesem dopování, kdy jsou do polymerního řetězce zabudovány ionty opačného náboje (dopanty), než je kostra vodivého polymeru. Tyto dopanty se do vodivého filmu dostávají při přípravě z roztoku, který obsahuje rozpuštěný příslušný monomer a příměs (sůl nebo kyselinu).

Polymerní filmy mohou být elektrochemicky měněny z vodivého do nevodivého stavu i naopak, mohou existovat v oxidovaném, neutrálním nebo redukovaném stavu. U některých polymerů se jednotlivé oxidační stavy liší barvou, např. u polyanilinu či polythiofenu. Elektrochemicky lze polymerovat celou řadu aromatických látek; takto byly připraveny především polymery pyrrolu, anilinu, thiofenu, furanu, fenolu a jejich derivátů. Dále je možno polymerovat i sloučeniny obsahující vinylovou skupinu. Kvalita polymerních filmů závisí vedle zvolené metody i na dalších parametrech, jmenovitě na výběru rozpouštědla a elektrolytu (druh a koncentrace dopujícího iontu⁴), pH (cit.⁵), koncentraci monomeru, jeho substituci (která ovlivňuje morfologii, vodivost i stálost výsledného filmu), aplikovaném proudu nebo potenciálu, rychlosti ukládání polymeru na povrch elektrody, teplotě a v neposlední řadě i na podkladovém materiálu elektrody (substrátu).

Prostředím pro elektropolymerace mohou být vodné roztoky a čistá či směsná organická rozpouštědla. Výhodou organického prostředí je, že se v něm rozpouštějí mnohé organické monomery ve vodě nerozpustné a organické prostředí též umožňuje rozšířit použitý potenciálový rozsah, v němž je polymerace prováděna. Nejčastější vodná prostředí pro polymerace jsou vodné roztoky kyseliny sírové⁶, chloridu a chloristanu lithného či sodného a další.

Z organických prostředí se užívá nejčastěji dichlormethan a acetonitril⁶. Při polymeraci v nevodném prostředí je třeba přidat podpůrný elektrolyt, jako tetrabutylamonium-perchlorát, tetraethylamonium-tetrafluoroborát apod., který zaručí vodivost elektrolytu. Nejčastěji používanými elektrodovými materiály při elektropolymeraci jsou skelný uhlík, zlato, platina či sklo pokryté vrstvou smíšeného oxidu $\text{In}_2\text{O}_3\cdot\text{SnO}_2$ zajišťujícího vodivost (zkráceně ITO sklo).

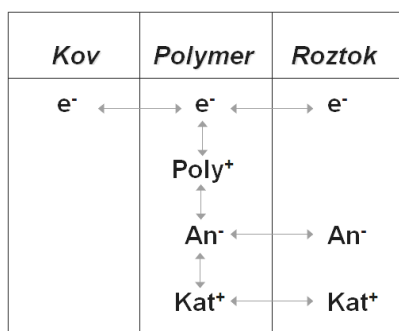
3. Mechanismus potenciometrické odezvy vodivých polymerů

Oxidované (*p*-dopované, *p*-typ) vodivé polymery jako polypyrrol (PPYR), polythiofen (PTF), polyanilin (PANI) a jejich deriváty jsou tvořeny polykationovým skeletem a aniontem kompenzujícím náboj. Z hlediska potenciometrie pak v závislosti na velikosti a pohyblivosti včleněných iontů fungují vodivé polymery jako iontoměničové anionty či kationty a následkem toho dávají aniontovou nebo kationtovou potenciometrickou odezvu^{5,7}. Potenciometrická odezva je ovlivněna i přenosem elektronů na rozhraní polymer-roztok, pokud jsou v roztoku přítomny redoxní složky^{5,8}.

Mechanismus potenciálové odezvy vodivých polymerů je podrobně diskutován v několika článcích^{8–12}. Hlavní teoretické modely chování vodivých polymerů a stejně tak experimentální data byly prezentovány Lewenstamem⁹ a Bobackou¹⁰. Všechny úvahy o mechanismech mohou být redukovány na dva zásadní případy potenciálové odezvy¹²:

- i) Potenciálová odezva je dána změnou potenciálu na rozhraní vodivého polymeru a roztoku a je podmíněna přenosem elektronů a dopujících iontů bez změny redoxního stavu polymeru.
- ii) Potenciálová odezva je výsledkem redoxního procesu, který mění redoxní složení povrchu polymeru v důsledku ustavování rovnováhy mezi polymerem a roztokem.

Schematický diagram procesů zodpovědných za vznik signálů je ukázán na obr. 1. Tyto procesy jsou detailně popsány složitými rovnicemi v práci Lewenstama a spol⁹.



Obr. 1. Schematický model reakcí zodpovědných za tvorbu signálů v systému kov-polymer-roztok, kde e^- je elektron, Poly^+ je oxidovaný polymer, An^- a Kat^+ je dopující aniont resp. kationt

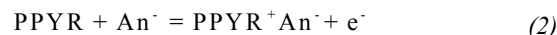
Elektrony se vyměňují jednak mezi elektrodou a polymerem, jednak mezi polymerem a roztokem. Polymer podléhá redoxním reakcím v závislosti na přítomných redoxních složkách v roztoku. Je-li polymer v oxidovaném stavu, pak je jeho náboj kompenzován anionty z roztoku, které mohou být snadno vyměňovány. Pokud je polymer dopován objemnými anionty, jejichž výměna je obtížná, pak jsou tyto anionty fixovány v objemu filmu a celkový náboj je kompenzován výměnou kationtů.

Pro oba případy potenciálové odezvy byly odvozeny následující rovnice¹². Pro elektronovou a iontově-výměnnou rovnováhu polymerních elektrod platí:

$$E = E^{\circ'} + \frac{RT}{F} \ln\left(\frac{[\text{Poly}^+]}{[\text{Poly}]}\right) + \Delta\phi_D \quad (1)$$

kde $E^{\circ'}$ je formální potenciál redoxního systému; $[\text{Poly}^+]$ a $[\text{Poly}]$ jsou rovnovážné koncentrace oxidované a redukované formy polymeru. Člen $\Delta\phi_D = \pm RT/F \ln(x/a)$ je Donnanův potenciál na rozhraní polymer-roztok, jestliže koncentrace iontově-výměnných center (x) je vyšší než aktivita iontů v testovaném roztoku (a). Poměr $[\text{Poly}^+]/[\text{Poly}]$ reprezentuje oxidovaný stav polymeru podmíněný spontánním redoxním procesem mezi polymerem a redoxně-aktivními složkami přítomnými v roztoku. Člen ($\Delta\phi_D$) může být buď kladný (měnič aniontů, PPYR dopovaný malými anorganickými anionty) nebo záporný (měnič kationtů, PPYR dopovaný velkými organickými anionty). Pokud je koncentrace dopantu v polymeru konstantní ($[\text{Poly}^+]/[\text{Poly}] = \text{konst.}$), pak může být získána Donnanova potenciálová odezva polymerní elektrody k iontům v testovaném roztoku.

Pro elektrochemickou oxidaci polypyrrolu doprovázenou insercí (vstupem) aniontů (An^-) do polymerní matrice platí redoxní reakce:



Potenciál kovové elektrody modifikované PPYR může být následně vyjádřen následující rovnicí¹¹.

$$E = E^{\circ} + \frac{RT}{F} \ln\left(\frac{a_{\text{PPYR}^+}}{a_{\text{PPYR}} a_{\text{An}^-}}\right) \quad (3)$$

kde E° je standardní potenciál redoxního systému $\text{PPYR}^+/\text{PPYR}$, a_{PPYR^+} a a_{PPYR} jsou aktivity oxidované a redukované formy polypyrrolu, a_{An^-} je aktivita aniontů v roztoku. Pokud je koncentrace dopantu v polymeru konstantní (tj. $a_{\text{PPYR}^+}/a_{\text{PPYR}} = \text{konst.}$), pak se vztah zjednoduší:

$$E = E^{\circ} - \frac{RT}{F} \ln(a_{\text{An}^-}) \quad (4)$$

V některých případech jsou anionty fixovány v polymerním filmu a redoxní rovnováha mezi polymerem

a roztokem je dána pouze výměnou kationtů. Tento mechanismus je markantní při použití objemných organických dopantů, anebo při dopování tlustých PPYR filmů anorganickými ionty. Kationtová výměna PPYR je popsána takto:



a potenciál elektrody je vyjádřen následující rovnicí:

$$E = E^0 + \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{a_{\text{PPYR}^+} a_{\text{Kat}^+}}{a_{\text{PPYR}}} \right) \quad (6)$$

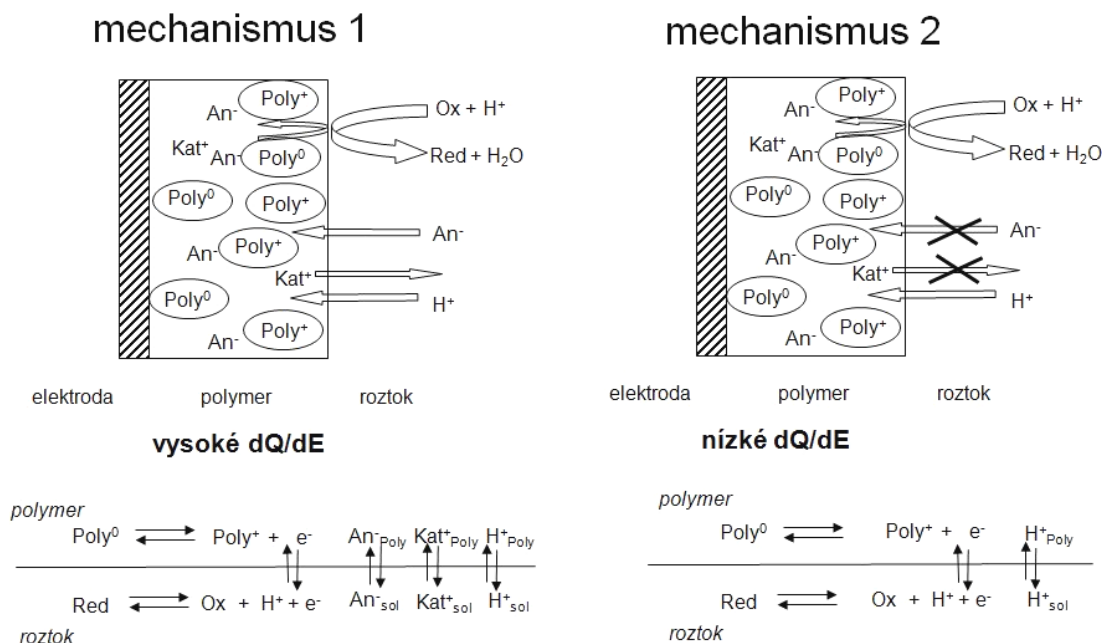
Při konstantní koncentraci dopantu v polymeru platí¹¹:

$$E = E^0 + \frac{RT}{F} \ln(a_{\text{Kat}^+}) \quad (7)$$

Redoxní odezva vodivého polymeru může být buď „kovové“ nebo „nekovové“ povahy, což závisí na tom, zda přenos elektronů je nebo není doprovázen i přenosem iontů.

Kromě iontové a redoxní odezvy závisí potenciál většiny vodivých polymerů také na pH. Mechanismus smíšené redoxní a pH odezvy byl navržen Maksymiukem⁸ a Michalskou¹³ a může být dvojí (obr. 2):

- i) V prvním případě je náboj v polymerním filmu po kontaktu s oksyleným roztokem vyrovnáván výměnou iontů (kationtů nebo aniontů) mezi polymerem a roztokem, přičemž pro aniontově-výměnné filmy nastává především přenos aniontů přes rozhraní polymer-roztok. V tomto případě přejde přes fázové rozhraní polymer-roztok pro určitou změnu potenciálu (dQ/dE_1 , tj. redoxní kapacita filmu) relativně velký náboj, který je úměrný tloušťce filmu. Výběr dopujícího iontu ovlivňuje vedle iontově-výměnných vlastností i redoxní kapacitu polymeru⁸. Probíhá-li přenos iontů přes rozhraní polymer-roztok, pak odezva bude vždy pomalejší ve srovnání s dalším mechanismem.
- ii) Stejně jako v předchozím případě polymer obsahuje vysokou koncentraci elektricky nabitých nosičů, ale při kontaktu s oksyleným roztokem neprobíhá přenos iontů na rozhraní polymer-roztok. Polymer slouží jako polymerní membrána bohatá na elektrony, která při kontaktu s roztokem obsahujícím redoxní pár přispívá k elektrickému potenciálu. Mechanismus tvorby elektrického potenciálu na rozhraní polymer-roztok a celková odezva elektrody založené na vodivém polymeru bude podobná jako u ušlechtilých kovů. Tento mechanismus převládne, jestliže je přenos elektronu nebo protonu přes fázové rozhraní výrazně rychlejší než iontová výměna⁸. Polymerní vrstva se polarizuje obdobně jako kovové elektrody. Množství náboje vyměněné v tomto případě (dQ/dE_2) je nižší než u prvního



Obr. 2. Schéma dvou mechanismů nastávajících na rozhraní polymer-roztok; jako modelový systém byl použit polymer dopovaný jednoduše vyměnitelnými anionty. Oxidovaná a neutrální forma polymerní kostry je označena jako Poly^+ a Poly^0 ; An^- a Kat^+ představují pohyblivé anionty a kationty; Ox a Red jsou formy pH závislého redoxního systému v roztoku; H^+ značí vodíkový kationt. Dolní indexy Poly a sol označují polymerní fázi a roztok¹³

mechanismu. Vlivem polarizace jsou sice potenciálové změny rychlejší, ale absolutní změny potenciálu jsou nižší. Pro závislost potenciálu elektrody na pH pak platí, že její směrnice je menší, než je tomu u prvního mechanismu¹³.

Výše uvedené mechanismy jsou pouze ideálními modely chování, neberou totiž v úvahu nehomogenitu filmů, jejich defekty a především elektrochemické působení některých dalších redoxních systémů¹¹. Ve skutečnosti není odezva polymerních elektrod nikdy čistě aniontová nebo kationtová a absolutní hodnota směrnice odezvy elektrody tak bývá většinou nižší než teoretická hodnota.

Teoretické modely odezvy vodivých polymerů na pH byly navrženy na základě chování polypyrrolových filmů při měření závislosti potenciálu na čase, proudu na potenciálu (cyklická voltametrie) a frekvence na čase (elektrochemické křemenné mikrováhy). Citlivost polypyrrolových filmů k pH je ovlivňována dopujícími anionty podpůrného elektrolytu, ze kterého je PPYR připraven¹³. Podle prvního mechanismu byla pozorována pro polypyrrol dopovaný jednoduše vyměnitelnými anionty (Cl^- , NO_3^- , ClO_4^-) pomalá časová odezva elektrod, která souvisí s přechodem iontů z roztoku do filmu kvůli kompenzaci náboje vytvořeného protonací. Naopak podle druhého mechanismu je iontová výměna polypyrrolu dopovaného v přítomnosti aniontů slabých kyselin (ftaláty, šťavelany, salicyláty) potlačena pro rychlou odezvu způsobenou polarizací oxidované polymerní vrstvy. Navíc jsou tyto filmy méně citlivé na změny pH.

Poskytuje-li vodivý polymer odezvu současně vůči aniontům, kationtům a redoxním složkám, pak primární úlohou při použití takového potenciometrického senzoru je zlepšení jeho selektivity vůči cílovému analytu vhodnou funkcionalizací. Ta může být realizována kovalentní či nekovalentní vazbou rozpoznávacího místa (funkční skupiny, komplexujícího ligandu či ionoforu) na polymer. Od těchto rozpoznávacích míst je očekáváno zvýšení selektivní extrakce analytu v porovnání s interferenty.

4. Aplikace potenciometrických pH senzorů na bázi vodivých polymerů

Široké pole aplikací vodivých polymerů jako senzorů se promítá i do návrhů potenciometrických iontově-selektivních elektrod odstartovaných vývojem pH senzorů na začátku 80. let minulého století. Ačkoli je skleněná membránová elektroda nejvíce používaným pH senzorem, má několik nevýhod^{14,15}. Nízká mechanická odolnost, vysoký odpor, velikost a interference kationtů alkalických kovů¹⁴ znemožňují její použití při některých analýzách *in vivo*. Její funkce je ovlivněna i některými anionty, např. fluoridy¹⁶. Polymerní pH elektrody mají naopak nízký odpor, lze je jednoduše připravit a mohou být snadno miniaturizovány. Tyto elektrody jsou pak možnou náhradou skleněné elektrody ve výše zmíněných analýzách¹⁵. Odezva senzorů na pH může být způsobena protonací dusíkových atomů v polymeru a/nebo iontově-výměnnou rovno-

váhou mezi vodíkovými ionty a výměnnými místy (např. funkčními skupinami) na polymerní kostře.

Jedním z prvních pH senzorů byla platinová elektroda potažená elektrochemicky připraveným poly(1,2-fenylendiaminem)¹⁷. Dále byly použity polymerní filmy na bázi diaminobifenylu¹⁸, komplexu (4-hydroxyfenyl)porfyrinu s kobaltem¹, aminoantracenu¹⁴, komplexů tetraaminoftalocyaninů s mědí a niklem¹⁵, pyrrolu¹⁹, anilinu²⁰ a jejich derivátů^{16,20} a dalších látek. Většina těchto senzorů dávala odezvu blízkou teoretické Nernstově hodnotě v širokém rozmezí pH 1–13 s minimálními interferencemi kationtů Na^+ , K^+ a Li^+ , aniontů a redoxních složek přítomných ve vzorcích. Některé elektrody byly testovány na reálné vzorky vody a krevního séra a byly získány výsledky srovnatelné či dokonce lepší než při použití skleněné elektrody.

V literatuře je popsána řada faktorů, které mohou ovlivňovat pH vlastnosti výsledného polymeru. U polypyrrolem modifikovaných elektrod ze skelného uhlíku byla testována tloušťka filmů, která měla značný vliv na potenciometrickou pH odezvu²¹. Michalska a Maksymiuk studovali vliv změny pH na potenciometrickou odezvu polypyrrolu²². Zjistili, že ionty H^+ mohou být zapojeny do *i*) iontové výměny na rozhraní polymer-roztok, kdy kvůli vysoké pohyblivosti jsou ionty H^+ preferovány před ostatními a do *ii*) protonace/deprotonace polymerního filmu vhodnou kyselinou. Významným faktorem je vliv protonace filmu, která ovlivňuje potenciometrickou odezvu polypyrrolu v mírně kyselých roztocích²². Časová odezva elektrod potažených polypyrrolem citlivých na pH byla zlepšena zmenšením tloušťky filmu potažením uhlíkového povrchu povlakem z nevodivého polymeru PVC před vlastní polymerací polypyrrolu²³. Vedle vlivu tloušťky filmu byl studován i vliv rychlosti změny potenciálu ($\text{SR} = \text{„scan rate“}$) při přípravě vláknitého polypyrrolu na jeho potenciometrickou pH odezvu²⁴. Bylo zjištěno, že tloušťka vláknitého PPYR filmu nemá vliv na směrnici odezvy a naopak rychlost změny potenciálu podstatně ovlivňuje směrnici pH odezvy polymeru.

Elektrody potažené vodivými polymery také otevřely možnost pro imobilizaci různých biomolekul, což umožnilo výrobu mnoha biosenzorů^{25–27}. Pro imobilizaci enzymů byla použita celá řada vodivých polymerů (např. poly(*N*-methylpyrrol), polyanilin, polyindol, poly(*o*-fenylendiamin), polyfenol aj.)²⁶, pro depozici proteinových molekul však byl nejčastěji využíván polypyrrol pro svůj nízký oxidační potenciál²⁷. Značný počet prací je zaměřen na imobilizaci glukosoxidasy (GOD), protože GOD je modelový příklad stabilního enzymu. Princip potenciometrických biosenzorů na glukosu je založen na detekci změny pH způsobené enzymatickou oxidací glukosy glukosaoxidase na glukonovou kyselinu.

Při porovnání s klasickými polyvinylchloridovými membránovými iontově-selektivními elektrodami nedosahují elektrody potažené vodivými polymery tak nízkých detekčních limitů (nano- až pikomolární koncentrace). Naopak však mají tu výhodu, že jsou ve vzorcích nerozpustné a tudíž se nevymývají do měřeného roztoku. Jejich životnost bývá delší, poskytují rychlou a relativně stabilní potenciálovou odezvu.

Autoři tímto děkují MŠMT za podporu v rámci výzkumného záměru č. MSM 6046137307.

LITERATURA

- Blair T. L., Allen J. R., Daunert S., Bachas L. G.: *Anal. Chem.* **65**, 2155 (1993).
- Shoji E., Freund M. S.: *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 3383 (2001).
- Stejskal J., Kratochvíl P., Jenkins A. D.: *Polymer* **37**, 367 (1996).
- Li Y., Ouyang J.: *Synth. Met.* **113**, 23 (2000).
- Migdalski J., Blaz T., Lewenstam A.: *Anal. Chim. Acta* **395**, 35 (1999).
- Broncová G., Shishkanova T. V., Matějka P., Volf R., Král V.: *Anal. Chim. Acta* **511/2**, 197 (2004).
- Bobacka J., Ivaska A., Lewenstam A.: *Electroanalysis* **15**, 366 (2003).
- Maksymiuk K., Nybäck A.-S., Bobacka J., Ivaska A., Lewenstam A.: *J. Electroanal. Chem.* **430**, 243 (1997).
- Lewenstam A., Bobacka J., Ivaska A.: *J. Electroanal. Chem.* **368**, 23 (1994).
- Bobacka J., Gao Z., Ivaska A.: *J. Electroanal. Chem.* **368**, 33 (1994).
- Tamm J., Alumaa A., Hallik A., Silk T., Sammelseg V.: *J. Electroanal. Chem.* **414**, 149 (1996).
- Alumaa A., Hallik A., Mäeorg U., Sammelseg V., Tamm J.: *Electrochim. Acta* **49**, 1767 (2004).
- Michalska A., Maksymiuk K.: *Microchim. Acta* **143**, 163 (2003).
- Faria R. C., Bulhoes L. O. S.: *Anal. Chim. Acta* **377**, 21 (1998).
- Kang T.-F., Xie Z.-Y., Tang H., Shen G.-L., Yu R.-Q.: *Talanta* **45**, 291 (1997).
- Lindino C. A., Bulhoes L. O. S.: *Anal. Chim. Acta* **334**, 317 (1996).
- Heineman W. R., Wieck H. J., Yacynych A. M.: *Anal. Chem.* **52**, 345 (1980).
- Jin L., Shi Z., Ye J., Qian J., Fang Y.: *Anal. Chim. Acta* **244**, 165 (1991).
- Lakard B., Segut O., Lakard S., Herlem G., Gharbi T.: *Sens. Actuators, B* **122**, 101 (2007).
- Lakard B., Herlem G., Lakard S., Guyetant R., Fahys B.: *Polymer* **46**, 12233 (2005).
- Shiu K. K., Song F. Y., Lau K. W.: *J. Electroanal. Chem.* **476**, 109 (1999).
- Michalska A., Maksymiuk K.: *Electrochim. Acta* **44**, 2125 (1999).
- Masalles C., Borros S., Vinas C., Teixidor F.: *Anal. Bioanal. Chem.* **372**, 513 (2002).
- Mo X., Wang J., Wang Z., Wang S.: *Sens. Actuators, B* **96**, 533 (2003).
- Vidal J.-C., Esperanza G.-R., Castillo J.-R.: *Microchim. Acta* **143**, 93 (2003).
- Bartlett P. N., Cooper J. M.: *J. Electroanal. Chem.* **362**, 1 (1993).
- Lvova L., Legin A., Vlasov Y., Cha G. S., Nam H.: *Sens. Actuators, B* **95**, 391 (2003).

G. Broncová, T. V. Shishkanova, M. Krondřák, R. Volf, and V. Král (*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical Engineering, Institute of Chemical Technology, Prague, Czech Republic*): **Potentiometric Sensors Based on Conducting Polymers: Preparation, Response Mechanisms and Applications**

This article summarizes the properties of conducting polymers (CP) used in potentiometric sensors. Conducting polymers such as polypyrrole (PPYR), polyaniline (PANI), polythiophene (PTF) and their derivatives are multifunctional materials with unique electric, electrochemical and optical properties, which can be used in chemical sensors, e.g., in noble-metal electrodes coated with a CP film. Electrodes modified with CP containing substituents and dopants can be obtained by electrochemical polymerization of a wide range of monomers. The simple procedure leads to thick and homogenous coverage of the electrode metal. The film acting as a cation or anion exchanger provides a cationic or anionic potentiometric response, which depends on the size and mobility of incorporated ions. The electron transfer across the polymer–solution boundary affects the potentiometric response in the presence of a redox-active species. The most important factor influencing CP properties is pH. CPs containing heteroatoms in their structure can be protonated or deprotonated. CP-based sensors have some advantages, such as a fast response to the analyte and the possibility of miniaturization. Their lifetime is longer than that of classical PVC membrane electrodes because there is no ionophore loss from the membrane due to a low solubility of polymer films in analytes.

IMOBILIZOVANÉ FOTOSENZITIZÁTORY SINGLETOVÉHO KYSLÍKU A JEJICH ÚČINEK NA MIKROORGANISMYSY

RENATA RYCHTÁRIKOVÁ
a GABRIELA KUNCOVÁ

Ústav chemických procesů AV ČR, v. v. i., Rozvojová
2/135, 165 02 Praha 6 - Suchbátka
rychtarikova@icpf.cas.cz

Došlo 18.12.08, přijato 26.2.09.

Klíčová slova: fotosenzitizátor, singletový kyslík, reaktivní kyslíkové částice, mikroorganismy, imobilizace, fotosenzitivní materiály

Obsah

1. Úvod
2. Hlavní znaky fotodynamického procesu a jeho biologický význam
3. Citlivost mikrobiálních buněk vůči reaktivním kyslíkovým částicím
4. Imobilizace fotosenzitizátorů a jejich účinnost
 - 4.1. Imobilizace adsorpcí
 - 4.2. Imobilizace iontovou výměnou
 - 4.3. Zakotvení kovalentní vazbou
 - 4.4. Zachycení do polymerní matrice
 - 4.5. Liposomová technika
5. Závěr

1. Úvod

Letos uplynulo již 80 let od objevu penicilinu, objevu tehdy nepředvídaného dosahu, který se vedle humánní medicíny a veterinárního lékařství uplatnil ve formě bakteriocinů i v ochraně potravinářských výrobků. Vzrůstající obavy z možného vzniku rezistence mikrobiálních kmenů vedly v posledních dvaceti letech k vývoji a aplikaci nových metod účinné destrukce mikroorganismů.

Jedním z možných způsobů je jejich fotodynamická inaktivace. Tento jev byl poprvé zaznamenán již v roce 1900 při působení akridinových barviv na jednobuněčné organismy¹ a od té doby neustále nabývá na významu. Absorpcí světelného záření molekulami fotosenzitizátoru dochází v přítomnosti kyslíku ke tvorbě singletové formy, $^1\text{O}_2$, a dalších reaktivních kyslíkových částic (ROS) způsobujících až totální destrukci jak bakterií, kvasinek a protozoí, tak i virů.

Poté, co byl ověřen cytotoxický účinek řady rozmanitých „volných“ fotosenzitizátorů² vůči téměř všem typům

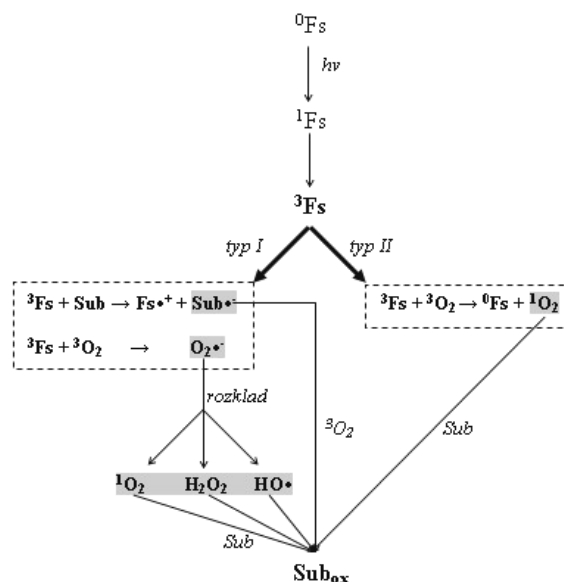
mikroorganismů³, se z důvodu snadnější manipulace výzkum zaměřil i na jejich imobilizaci (starší práce do r. 1997 byly shrnuty Julliardem⁴).

Potenciální využití cytotoxického působení fotosenzitizátorů sahá od biotechnologie a potravinářství až po medicínu a spočívá např. v dezinfekci mikrobiálně znečištěné vody a krevních konzerv, pasteraci potravin i potlačení lokální infekce.

Přestože již bylo publikováno několik přehledných referátů detailně popisujících principy fotodynamického jevu^{5–7} a působení singletového kyslíku na biologický materiál^{3,8,9}, poznatky týkající se imobilizace fotoaktivních látek, účinku na mikroorganismy a možného využití byly dosud jen okrajově zmíněny. Pokus o jejich souhrnnější zpracování je předmětem tohoto článku.

2. Hlavní znaky fotodynamického procesu a jeho biologický význam

Fotosenzitizátor je látka obsahující chromofory silně absorbující fotony ve viditelné, případně UV oblasti světelného spektra, a následně přenášející absorbovanou ener-



Obr. 1. Zjednodušený diagram fotoprocesu. ^0Fs , ^1Fs , ^3Fs – základní stav, první excitovaný singletový stav a první excitovaný tripletový stav fotosenzitizátoru, $\text{Fs}^{\bullet+}$ – radikál fotosenzitizátoru, $^3\text{O}_2$ – základní stav tripletového kyslíku, $\text{O}_2^{\bullet-}$ – superoxidový anion, OH^{\bullet} – hydroxylový radikál, $^1\text{O}_2$ – singletový kyslík, Sub – substrát, Sub_{ox} – oxidovaný substrát, $\text{Sub}^{\bullet-}$ – radikál substrátu

gii na kyslík či jiné substráty. Jedná se obecně o aromatické či heterocyklické sloučeniny, obvykle o barviva porfyrinové, fenazinové či ftalocyaninové struktury³.

Základní charakteristiky excitace fotosenzitizátoru jsou zachyceny na obr. 1. Po absorpci světla prochází senzitivátor ze základního stavu ^0Fs postupně několika elektronovými excitovanými stavy. Primární excitovaný singletový stav ^1Fs přejde mezikvázovým přechodem do nejnižšího excitovaného tripletového stavu ^3Fs . Ten se vyznačuje dobou života v rozmezí mikro- až milisekund. Dalším parametrem ovlivňujícím účinnost fotosenzitizátoru je kvantový výtěžek a energie tripletového stavu. Tripletový stav ^3Fs se může následně deaktivovat několika cestami důležitými z fotobiologického hlediska. Jde o současné, vzájemně si konkurující procesy⁸.

První typ začíná přenosem elektronu z excitovaného senzitivátoru ^3Fs na substrát Sub s vhodnými oxidoredukčními vlastnostmi. Tato cesta, označovaná jako mechanismus typu I, produkuje intermediáty fotosenzitizátoru a substrátu radikálového typu (např. $\text{Fs}^{\bullet+}$, $\text{Sub}^{\bullet-}$). Ty mohou dále postupně reagovat s dalšími přítomnými substráty nebo molekulami rozpouštědla a kyslíku. Reakcí radikálů fotosenzitizátoru nebo substrátu s kyslíkem vznikají kočně oxidované produkty^{3,8}.

Zvláštní případ nastává, pokud je akceptorem elektronu kyslík. Ten poskytuje⁸ superoxidový radikál $\text{O}_2^{\bullet-}$. Tento anionradikál je slabou bází. Je též schopný s většinou biomolekul reagovat. Při neutrálním pH se chová jako slabý primární oxidant. Tento radikál není schopen difundovat skrz biologické membrány ani peroxidovat lipidy

Tabulka I
Cytotoxické působení $^1\text{O}_2$ a dalších reaktivních kyslíkových částic (ROS)

Biomolekuly	Atakovaná část biomolekuly	Atakovaná funkční skupina	Hlavní fotoprodukty	Cytotoxické působení ^{3,8,9}	
Proteiny	tryptofan	indolinylyl	hydroxyindoly, kynureniny	inhibice respirace, shlukování ribosomů a replikace, proteolytické reakce	
	tyrosin	-C ₆ H ₄ OH	chinony, pigmenty melaninového typu, tyrosinhydroperoxydy, bityrosin		
	histidin	imidazolyl	endoperoxydy, 2-oxohistidin		
	methionin	-S-R	methioninsulfoxidy		
	cystein	-SH	cystin, cysteová kyselina		
	prolin		glutamová kyselina aj. organické kyseliny		
	leucin		2-oxoisokaprová a isovalerová kyselina		
	místa vazby kovů v enzymech				
Nenasycené lipidy	olejová, linolová, linolenová kyselina, PUFA	-HC=CH-	allylové hydroperoxydy, endoperoxydy, peroxidové radikály	pokles fluidity a permeability membrán, zvýšení jejich propustnosti pro Na ⁺ /K ⁺ , změna elektrochemického gradientu H ⁺ , degradace mastných kyselin, řetězové reakce s proteiny a DNA	
Steroidy	cholesterol	-HC=CH-	5 α nebo 7 α hydroperoxydy	mutagenní účinky, inhibice syntézy DNA	
	Nukleové kyseliny	guanodin	purin		8-hydroxyguanodin, 2,6-diamino-4-hydroxy-5-formamidopyrimidin
	thymidin	pyrimidin	glykoly, močovina		T-C mutace u jednořetězové DNA, blokáce replikace u dvouřetězové DNA
	cytosin	pyrimidin	glykoly, deriváty uracilu	sekundární reakce, mutagenní účinky	
Sacharidy	deoxyribosa aj. monosacharidy		2-oxoaldehydy, H ₂ O ₂ , volné radikály	zlomy DNA, neenzymatické glykosylace proteinů	
	polysacharidy – β -cyklodextrin, pektin, alginát, dextran, pullulan, chitosan		depolymerizace		

buněčných kompartmentů, může však omezit transport elektronů v enzymech dýchacího řetězce¹⁰ a inhibovat antioxidační enzymy (glutathionperoxidasu, a částečně také katalasu)¹¹ i mitochondriální enzymy (NADH-dehydrogenasu, NADH-oxidasu a mitochondriální ATPasu)¹². Může také přímo reagovat s enzymy obsahujícími klastry 4Fe-4S (např. s akonitasou), zvyšovat tak hladinu iontů železa v intracelulárním prostředí a přispívat k dalšímu poškození buňky oxidativním stresem způsobeným Fentonovou reakcí¹³. Při pH nižším než 4,8 je $O_2^{\bullet-}$ přítomný jako hydroperoxylový radikál HOO^{\bullet} .

Superoxidový radikál ve vodném prostředí za vhodných podmínek samovolně přechází na další primární oxidanty – peroxid vodíku, H_2O_2 , hydroxylový radikál, HO^{\bullet} , příp. singletový kyslík, 1O_2 . Tyto částice jsou pro buňku mnohem toxičtější, protože snadněji prochází buněčnými membránami a jsou schopné v intracelulárním prostředí iniciovat řetězové reakce volných radikálů¹¹.

Tento fakt platí zejména pro peroxid vodíku H_2O_2 v neutrálním a kyselém prostředí. Ten má schopnost difundovat do relativně velké vzdálenosti od místa svého vzniku a tam se vázat s přítomnými bílkoviny nebo bázemi DNA. Tyto cheláty pak slouží jako jeho nosiče, značně zpomalují jeho rozklad a usnadňují jeho prostup biologickými membránami. Zvyšují tedy jeho oxidativní účinek¹⁴. Oxidativní poškození působením H_2O_2 je též přisuzováno jeho reakcím s přechodnými kovy nebo hemovými proteiny typu cytochromu c. Radikály vzniklé těmito reakcemi v buňce dále katalyzují oxidativní procesy, zejména lipidové peroxidace¹⁵. H_2O_2 navíc velmi rychle reaguje s různými peroxidasami, čímž dochází ke zvýšení počtu volných radikálů příslušných substrátů¹⁶.

Přestože doba života dalšího primárního oxidantu – hydroxylového radikálu HO^{\bullet} – je relativně velmi krátká (< 1 ns), reaguje snadno prakticky se všemi biologickými molekulami. Cytotoxický účinek HO^{\bullet} spočívá v jeho schopnosti odtrhnout vodík z biomolekul nebo v jeho adici na dvojně vazby. Primárním místem ataku jsou zejména aromatické kruhy aminokyselin. Často se tak spouští řetězové reakce¹⁷.

Další typ fotosenzitivního procesu, označovaný jako mechanismus typu II, je považován za hlavní cestu způsobující fotooxidativní poškození buňky. Vyznačuje se přenosem energie z částice 3F_s na jakýkoliv substrát, jehož energie tripletového stavu leží na nižší hladině než tripletový stav reagujícího senzitivizátoru. Mnoho složek buněčné hmoty má však energii tripletového stavu relativně vysokou a není tudíž schopno 3F_s zhaset. Jednou z výjimek tvoří molekula kyslíku. Ta excitovaný tripletový stav fotosenzitivizátoru zhasí velmi účinně, čímž přechází do svého singletového stavu, jehož energetická hladina leží pouze o 94,1 kJ (22,5 kcal) nad jejím základním tripletovým stavem⁸.

Singletový kyslík 1O_2 vykazuje vysokou cytotoxicitu, která je způsobena jeho dlouhou dobou života⁷ (3–4 μ s ve vodných prostředích a několik desítek mikrosekund v lipidech⁸). Oxidačně reaguje zejména s nenasycenými

biomolekulami a poskytuje tak jejich značně labilní peroxidy a hydroperoxidy¹⁸.

V této souvislosti je nutné zdůraznit, že v obou mechanismech fotosenzitizace dochází ke tvorbě elektrofilních částic, což činí elektronově bohaté biomolekuly přednostním centrem ataku. Reakce primárních ROS ($O_2^{\bullet-}$, HOO^{\bullet} , H_2O_2 , 1O_2) s biomolekulami vedou ke vzniku velkého počtu typů sekundárních radikálů způsobujících další cytotoxické poškození. Sekundární radikály skýtají pro buňku mnohem větší nebezpečí, neboť jsou iniciátory řetězových reakcí⁸. Cytotoxické působení primárních reaktivních částic je uvedeno v tab. I.

3. Citlivost mikrobiálních buněk vůči reaktivním kyslíkovým částicím

Reaktivní kyslíkové částice (ROS) produkované senzitivizátory se obecně chovají stejným způsobem jako jiné exogenní stresové faktory. V nižších koncentracích podporují syntézu proteinů, které buňku chrání vůči toxickému účinku druhé dávky¹⁹.

Nejvýznamnějším faktorem v boji mikroorganismů proti oxidativnímu stresu je jejich vztah ke kyslíku. Na rozdíl od aerobních mikroorganismů, které jsou vybaveny enzymy degradace produktů oxidativního stresu, obsahují anaerobní mikroorganismy těchto enzymů mnohem méně a mohou být tedy snadněji působením ROS usmrceny⁹. V anaerobních bakteriích hraje roli hlavního exogenního stresoru kyslík. První obrannou linií proti jeho toxicitě představuje negativní aerotaxe²⁰ a dále složení média. Při kultivaci v komplexním médiu vzrůstá vůči němu jejich odolnost²¹.

Striktní anaerobi jsou k přítomnosti kyslíku či H_2O_2 podstatně citlivější než anaerobi aerotolerantní či fakultativní²². Všechny anaerobní bakterie však obsahují nejméně jeden enzymový detoxikační systém, který u nich reprezentuje hlavní obranný enzymový aparát²³. Koncentrace nebo aktivita obranných enzymů sice není u striktních anaerobů pro detoxikaci ROS v aerovaných systémech dostatečná, ale alespoň dovolí aerotolerantnějším druhům růst v přítomnosti nízkých koncentrací kyslíku. V některých případech je klasický obranný enzym nahrazen jiným podobným enzymem, jak je tomu například u ruberythrinu se superoxididismutasovou aktivitou *Clostridia perfringens*. Hypertermofilní archaebakterie, reprezentující zvláštní skupinu anaerobů, též obsahují některé obecně se vyskytující enzymové detoxikační systémy²⁴.

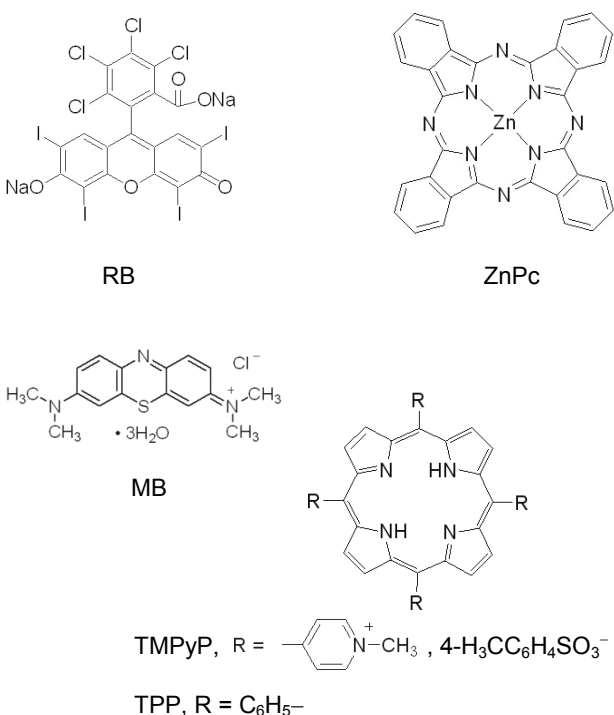
Další důležitou vlastností mikrobiální kultury ovlivňující její citlivost k fotoprocesu je fyziologický stav. Bakteriální populace v exponenciální fázi růstu nevykazuje, s výjimkou vláknitých a pučících bakterií, žádné zřetelné znaky stárnutí²⁵. Navíc její rychlý růst vlivem vysoké biosyntetické aktivity spojený s reprodukci příčným dělením zamezuje akumulaci poškozených biomakromolekul v buňce a následně umožňuje jejich nahrazení látkami

novými, funkčními²⁶. Zato kvasinka *S. cerevisiae* dělicí se pučením znaky stárnutí neboli tzv. replikativní senescenci známou u tkání mnohobuněčných organismů vykazuje. To znamená, že každá jednotlivá buňka je geneticky vybavena limitovanou reprodukční kapacitou, po několika buněčných děleních se přestává množit a podléhá autolýze²⁷. Prodloužení nebo zkrácení života eukaryotní buňky může být způsobeno mutací příslušného genu. O celkové kvasinkové kultuře však lze říci, že sama o sobě nestárne, protože obsahuje polovinu nově oddělených dceřiných buněk a část senescentních mateřských buněk s jizvami²⁸.

Na rozdíl od populace v exponenciální fázi je u populace ve fázi stacionární vyšší pravděpodobnost, že se biomolekuly poškozené oxidativním stresem budou v buňkách akumulovat. Buňky ve stacionární fázi však mají na rozdíl od logaritmicky rostoucích buněk vyvinutější antioxidační systémy⁹.

4. Imobilizace fotosenzitizátorů a jejich účinnost

Jak bylo uvedeno v úvodní části, fotosenzitivní vlastnosti vykazují látky schopné značně absorbovat elektromagnetické záření, např. barviva uvedená na obr. 2. Důležitými parametry senzitivátoru ovlivňujícími jeho využití



Obr. 2. Nejčastěji používaná fotosenzitivující barviva. RB – bengálská červeně, ZnPc – zinečnatý ftalocyanin, MB – methylenová modř, TPP – 5,10,15,20-tetrafenylporfyrin, TMPyP – 5,10,15,20-tetrakis(*N*-methyl-4-pyridinyl)porfyrin

pro fotoinaktivaci mikrobiálních buněk singletovým kyslíkem jsou obecně³ jeho fotostabilita, molární extinkční koeficient, lipofilicita (log P), ionizace (pKa) a kvantový výtěžek ¹O₂.

Za určitých podmínek by bylo vhodné použít k uskutečnění fotosenzitivní reakce senzitivátor imobilizovaný. Zatímco jeho neimobilizovaná forma je při fotodynamickém účinku v přímém kontaktu s mikroorganismy^{3,8}, imobilizací se vytvoří systém, v němž jsou fotosenzitivátor a mikroorganismy v oddělených fázích. V tomto případě stupeň inaktivace mikroorganismů závisí mimo jiné na koncentraci barviva obsaženého v materiálu a době ozáření²⁹. Heterogenní systém by však mohl vykazovat řadu výhod:

- snadné odstranění fotosenzitivátoru ze systému,
- opakované použití,
- zabránění tvorby jeho dimerů a vyšších agregátů, které způsobují snížení fotosenzitivní účinnosti,
- zamezení agregace a následného samozhášení,
- použití senzitivátoru, který je v homogenní formě v médiu nerozpustný a
- zvýšení odolnosti fotoaktivního barviva (zvláště vázaného kovalentní vazbou) vůči degradaci.

Nosič potom není pouze prostředek pro imobilizaci senzitivátoru, ale také důležitá součást reagentu. Měl by proto splňovat následující podmínky:

- být dobře propustný pro atmosférický kyslík, přičemž nesmí zhasět kyslík singletový a být oxidovatelný,
- být stabilní vůči světelnému záření, a to zejména slunečnímu,
- vykazovat biokompatibilitu zajišťující interakci mezi polymerem a mikroorganismy³⁰,
- být dostatečně smáčitelný vodou, aby byl umožněn energetický přechod mezi vázaným fotosenzitivátorem a atmosférickým kyslíkem⁴,
- mít vhodné mechanické vlastnosti,
- pro použití v bioreaktoru mít hydrodynamické vlastnosti zajišťující minimální pokles tlaku v systému,
- být komerčně dostupný a levný a také
- jeho imobilizace by měla být snadná a reprodukovatelná³⁰.

Vedle výše uvedených výhod nelze pominout ani některé možné nevýhody:

- zesílení a následné degradace chromoforů vázaných na nosičích vlivem sekundárních reakcí,
- samozhášení senzitivátoru při jeho vyšší koncentraci v imobilizovaném systému,
- zamezení přímého vniknutí senzitivátoru do buňky, čímž se vlivem omezené difuze singletového kyslíku v prostředí sníží účinnost fotodynamického procesu na mikroorganismy, a navíc
- při spektrálních analýzách obtíž kvantitativně vyhodnotit absorpci světla a určit koncentraci imobilizovaných molekul senzitivátoru, zejména těch excitovaných⁴.

Imobilizaci fotosenzitivujících barviv je možno provést několika způsoby. Výhody a nevýhody použitých

Tabulka II
 Antimikrobiální fotosenzitivní materiály

Imobilizace	Nosič	Charakteristika	Fotosenzitizátor ^a	Mikroorganismy ^b	Aplikace	Lit.
Adsorpce	porézní křemičité sklo	částice (pór 50 nm)	RB	<i>E. coli</i> , <i>S. faecium</i>	neuveдено	33
	silikagel	částice	TPP, Cd(II)TPP, Zn(II)TPP	GMM <i>E. coli</i>	neuveдено	35
Kovalentní vazba	styren-DVB	částice (60-120 mesh)	MB	<i>E. coli</i>	dezinfekce vody	36
		částice (20-50 mesh)	MB	<i>E. coli</i>	dezinfekce vody	36
	aktivní uhlí	částice (20-60 mesh)	MB	<i>E. coli</i>	dezinfekce vody	36
		membrána (tl. 0,15 mm)	<i>p</i> -THPP	<i>E. coli</i>	dezinfekce vody	39
	celofán	film (50 μm)	TMPyP	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>P. aeruginosa</i>	neuveдено	40,41
			TMPyP	<i>E. coli</i>	samo sterilovatelná kuchyňská utěrka	41
	pSil	dutý válec (Ø 4 mm)	RDP ²⁺	<i>E. coli</i> , <i>E. faecalis</i>	dezinfekce vody	30, 42, 43
	styren-DVB	částice (20-50 mesh)	RB, MB, eosin	<i>E. coli</i>	dezinfekce vody	36
			RB, MB, methylová červená, methylová zeleň	<i>E. coli</i> , <i>S. faecalis</i>	dezinfekce vody	58
	Zachycení v polymeru	stlačená celulosa	částice (200-400 mesh)	RB	<i>E. coli</i>	neuveдено
TPPS, CdTPPS, ZnTPPS				<i>E. coli</i>	neuveдено	61
nylon		vlákna	PP IX, ZnPP IX	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i>	textilie v nemocnicích	63
			ZnPeS	<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i>	dezinfekce vody	39
chitosan		membrána (tl. 0,15 mm)	PP IX	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i>	neuveдено	29
			a-tertieryl	<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , spóry bakterií, kondie plísní	neuveдено	69
ester celulosy		film (tl. 0,1 mm)	RB	<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i>	dezinfekce vody	64
			TBO	<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i>	antimikrobiální povrchy	67
PMMA		film (tl. 0,1 mm)	Fotolon	<i>E. coli</i>	neuveдено	74, 75
			acetát celulosy			
polysilsesquioxany	polymer z TEOS	vrstvy na optickém vlákne				
		xerogel	TtBPc, TSPc	<i>E. coli</i>	dezinfekce vody	73
polysilsesquioxany	filmy	TPMPyP, TPP	GMM <i>E. coli</i>	neuveдено	76	

Tabulka II
pokračování

Imobilizace	Nosič	Charakteristika	Fotosenzitizer ^a	Mikroorganismy ^b	Aplikace	Lit.
Zachycení v polymeru	polymer z TMOS	vrstva	TMPyP, TPP	GMM <i>E. coli</i>	neuváděno	76
		vrstva	TMPyP	<i>L. helveticus</i> , <i>B. amyloliquefaciens</i> , <i>Rhodococcus</i> sp.	neuváděno	77
	epoxidová pryskyřice	film na skle	RB	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	neuváděno	78
	PUR	nanotkanina (tl. 0,03 mm)	TPP	GMM <i>E. coli</i>	neuváděno	60
	PUA, BDS	film	derivát MB	<i>E. coli</i> , <i>S. epidermidis</i>	neuváděno	79
	chitosan	membrána (tl. 0,15 mm)	<i>p</i> -TAPP	<i>E. coli</i>	dezinfekce vody	39
	želatina	film	NaMg chlorofylin, NaCu chlorofylin	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>Salmonella</i> spp.	konzervační nátěry a obaly potravin	80
Liposomy	DOTAP	váčky (50-100 nm)	Hematoporfyrin, TDPyP	<i>S. aureus</i>	léčba infekcí	81, 82
	DMPC	váčky (50-100 nm)	mTHPC	<i>S. aureus</i>	léčba infekcí	83
Zeolity	Na-ZSM-5		thiofeny	<i>A. niger</i> , <i>C. albicans</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>	neuváděno	45, 46

^a viz kap. Použité zkratky, ^b grampozitivní bakterie – *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus helveticus*, *Listeria monocytogenes*, *Rhodococcus* sp., *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus faecium*; gramnegativní bakterie – *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp.; eukaryotní řasa – *Scenedesmus quadricauda*; plíseň – *Aspergillus niger*; kvasinka – *Candida albicans*

imobilizačních technik a účinnost připravených bioaktivních materiálů jsou shrnuty v tab. II a podrobněji diskutovány níže.

4.1. Imobilizace adsorpcí

Nejjednodušším způsobem imobilizace je adsorpce. Při ní jsou senzitivizátory zachyceny na povrchu nosiče fyzikálními, zejména van der Waalsovými silami, ale uplatní se i další interakce: iontové, vodíkové nebo hydrofóbní. Nevýhodou může být v některých případech malá pevnost vazby mezi nosičem a fotosenzitivizátorem. Interakce fotosenzitivizátor-nosič je totiž velmi závislá na fyzikálně-chemických vlastnostech jak roztoku senzitivizátoru použitého při přípravě (jeho pH, teplotě, iontové síle či typu rozpouštědla), tak i samotného nosiče (např. jeho hydrofobicitě a porozitě). Snadno tak může dojít k vymytí senzitivizátoru z matrice⁴.

Při nízké koncentraci fotosenzitivizátoru nezpůsobuje jeho adsorpce obvykle změnu konformace jeho molekul a tedy i jejich optických a fotosenzitivních vlastností. Při vysokém pokrytí povrchu adsorbentu však může nastat jejich agregace³¹.

Pokud jde o typy nosičů, velmi často využívanými jsou křemičité materiály. Ty totiž vykazují pro potřeby fotodynamického účinku několik pozitivních vlastností, jako možnost řídit jejich porozitu a vytvořit materiály s vysokými měrnými a reaktivními povrchy³¹. Levnými křemičitými materiály vhodnými pro imobilizaci senzitivizátorů jejich adsorpcí jsou sklo a jeho prekurzory. Zvýšení jejich adsorpční účinnosti lze dosáhnout zvýšením koncentrace jejich povrchových hydroxylových skupin aktivací působením roztoků minerálních kyselin nebo hydroxidů. Problémem při použití takto ošetřených materiálů však mohou být nespecifické sorpce. Při adsorpci methylenové modře na aktivované kuličky z porézního křemičitého skla byla k jejich potlačení využita diazotace povrchu materiálu, čímž došlo k navázání methylenové modře přímo přes aromatický kruh⁴. Výhodou takto imobilizovaného senzitivizátoru byla jeho stabilita v širokém rozmezí pH po dobu jednoho roku³².

Povrch sklíček byl pokryt kuličkami porézního křemičitého skla Glyceryl-CPG 500 A s imobilizovanou fotomikrobicidní bengálskou červení. Takto upravená sklíčka byla testována vůči bakteriím rodu *S. faecium* a *E. coli*. Zatímco u *S. faecium* došlo po 7 min ozařování zeleným světlem o intenzitě 200 mW cm⁻² k rychlému poklesu bakteriální denzity (o 99,2 % a 64 % při počátečních 10⁶ JTK ml⁻¹ a 10⁸ JTK ml⁻¹), *E. coli* byla vůči působení singletového kyslíku velmi odolná. K výraznému zvýšení fotosenzitivního účinku došlo teprve po narušení compatibility vnější lipopolysacharidové membrány působením Tris-EDTA nebo CaCl₂. Účinnost fotoprocesu též závisela na vzdálenosti mezi imobilizovaným fotosenzitivizátorem a buňkami. Se vzrůstající tloušťkou vrstvy vzduchu od 0,1 do 1,5 mm rostla vůči fotosterilaci jejich odolnost. Pro daný systém byl vypočítán³³ poločas cytotoxických částic 37 ms.

Velmi atraktivními nosiči v důsledku jejich nízké ceny jsou také silikagely. Absorpční a luminescenční spektra porfyrinů a některých dalších barviv adsorbovaných na silikagelu prokázala, že tento typ imobilizace má na energii nízkých elektronových stavů pouze malý vliv³⁴. V případě bengálské červeně sorbované na silikagelu může singletový kyslík difundovat na vzduchu⁴ do vzdálenosti 1 až 2 mm.

Cytotoxický účinek singletového kyslíku produkovaného tetrafenylporfyrinem (TPP) a jeho komplexy s kovy, Cd(II)TPP, Zn(II)TPP, Cu(II)TPP, Mn(III)TPP a Fe(III)TPP, adsorbovanými na silikagelu byl testován na geneticky upraveném bakteriálním kmenu *E. coli* DH5- α . Nejvyšší antimikrobiální účinek byl prokázán u TPP a komplexů ZnTPP a CdTPP, zatímco CuTPP, MnTPP a FeTPP byly prakticky neúčinné. Tyto mikrobiologické výsledky byly v souladu s výsledky získanými měřením produkce singletového kyslíku chemickými metodami. Slabá toxicita po ozaření však byla pozorována i u vlastního silikagelu³⁵. Silikagel byl využit³⁶ i pro zakotvení dalšího barviva, methylenové modře (viz dále).

5,10,15,20-Tetrakis(*N*-methyl-4-pyridinyl)porfyrin (TMPyP) byl z alkalického roztoku adsorbován na mezoporézní křemičité materiálu připravený hydrotermálním zpracováním oxidu křemičitého v přítomnosti tetramethylammoniumhydroxidu a povrchově aktivní látky. Adsorpci bylo možné popsat Langmuirovou isothermou, což podle autorů svědčilo o silných interakcích adsorbát-adsorbent³¹.

V případě methylenové modři byla využita hydrofobní styren-divinylbenzenová makroretikulární pryskyřice³⁶ Amberlite® XAD-2, u níž se předpokládá zachycení zejména iontovou vazbou³⁷, a aktivní uhlí. Pro fotosenzitivizující schopnost barviva se ukázal jako nejvhodnější druhý nosič, a to i ve srovnání s již výše zmíněným silikagelem. Navíc aktivita barviva vázaného na aktivním uhlí byla vůči *E. coli* stejná jako volného barviva³⁶.

Stojí za zmínku, že výběr vhodného iontoměničce je závislý na typu barviva. Barviva aniontového charakteru (bengálská červeně, eosin) se silně váží k aniontovým pryskyřicím (např. Amberlite® IRA-400), zatímco kationtová methylenová modř k silně kyselému iontoměničce (např. Amberlite® IRC-400)³⁸.

Vysoce smáčivý chitosan byl použit k přípravě tří materiálů lišících se typem imobilizace a použitým fotosenzitivizátorem. Mikrobicidní efekt všech těchto materiálů, včetně chitosanu s adsorbovaným 5,10,15,20-tetrakis(*p*-hydroxyfenyl)porfyrinem (cca 10 μ g cm⁻²), byl ověřen ve statickém systému při inaktivaci buněčné suspenze *E. coli*. Absorpční spektrum této membrány, která měla tmavě hnědou barvu, bylo sice širší, ale stále vykazovalo intenzivní Soretův pás a čtyři méně intenzivní Q-pásky typické pro porfyrin rozpuštěný v organických rozpouštědlech. Membrána, mající tloušťku 80 μ m, však byla velmi křehká³⁹. Další studie zmiňují fotobaktericidní účinek TMPyP zachyceného v celofánu vůči *S. aureus*^{40,41}, *E. coli*, *P. vulgaris*, *B. subtilis* a *P. aeruginosa*⁴¹. K sorpci TMPyP byla využita také celulosová textilie J Cloth®. Materiál byl úspěšně odzkoušen proti *E. coli* ve dvou modelových

systémech a poté při použití jako kuchyňská utěrka. Textilie byla v důsledku přítomnosti sorbovaného porfyrinu světle hnědě zbarvena⁴¹.

Z různých typů polymerních membrán s rutheniovými komplexy absorbujícími v UV oblasti (PVDF⁺/RSD⁴⁻, Cel⁺/RSD⁴⁻, pSil/RBN²⁺, Ny⁺/RSD⁴⁻, pSil/RDP²⁺ – viz Použité zkratky) byla pro konstrukci fotoreaktoru vybrána membrána pSil/RDP²⁺, která produkovala ve vodném prostředí singletový kyslík s nejvyšší dobou života 4,2 μs. V případě membrán Cel⁺/RSD⁴⁻ a Ny⁺/RSD⁴⁻ docházelo k uvolňování senzitivátoru do prostředí. V cirkulačním reaktoru byla rychlost inaktivace bakterií až 1,1·10⁵ JTK I⁻¹ h⁻¹ pro *E. coli* a 0,7·10⁵ JTK I⁻¹ h⁻¹ pro *E. faecalis*³⁰. Při průmyslové aplikaci byl žebrový typ solárního kolektoru při inaktivaci obou bakterií účinnější než typ koaxiální^{42,43}.

4.2. Imobilizace iontovou výměnou

Senzitivátory mohou být také adsorbovány na povrchu jílovitého materiálu nebo vmezeřeny mezi jeho vrstvy. Oba procesy probíhají iontovou výměnou. Vlivem negativního náboje vrstev mohou být zachyceny pouze kationické senzitivátory, např. TMPyP. Molekuly porfyrinů jsou fixovány elektrostatickými, kation-π, případně π-π interakcemi a mohou být organizovány mezi vrstvami materiálů v různé geometrii. Kationické porfyriny tvoří na povrchu materiálu monovrstvu, která je žádoucí pro minimalizaci samozhášení jejich fluorescence. Pd(II)-5,10,15,20-tetrakis(karboxyfenyl)porfyrin zachycený ve dvouvrstevnatém hydroxidu vykazoval ve srovnání s 5,10,15,20-tetrakis(4-sulfonatofenyl)porfyrinem vyšší produkci ¹O₂, a to bez ohledu na to, zda byl do materiálu vmezeřen či pouze adsorbován na jeho povrchu. Singletový kyslík produkovaný takto imobilizovaným porfyrinem vykazoval dobu života 6–64 μs, což je postačující, aby mohl volně difundovat póry ven z matrice⁴⁴.

V kanálcích zeolitů byly oxidativní polymerací syntetizovány kovové komplexy oligomerních thiofenů. Antimikrobiální účinek tohoto materiálu není založen na plné imobilizaci fotosenzitivátoru, ale naopak na jeho postupném uvolňování do kontaminovaného prostředí. Při studiu aktivity měďnatých komplexů thiofenů vůči sporulaci plísně *Aspergillus niger* a růstu kvasinky *Candida albicans* a bakterií *S. aureus* a *E. coli* bylo zjištěno, že heterogenní systém – růstové médium/modifikovaný zeolit – zvyšuje sporulaci testované plísně a usmrcuje studovaný kvasinkový kmen. Tento jev byl přisouzen nejen pomalému uvolňování oligomerů thiofenu, ale i měďnatých iontů. Procento usmrcených bakterií bylo působením fotoprocesu úměrné světelné expozici. Thiofenové oligomery v zeolitech zpomalovaly uvolňování mědi⁴⁵. Autoři se v následující práci⁴⁶ snažili vyhnout cytotoxickému působení Cu²⁺ a připravili modifikované zeolity s obsahem thiofenů v přítomnosti Fe³⁺. Počet mrtvých buněk *E. coli* a *S. aureus* po expozici světlem byl úměrný koncentraci zeolitu se zachycenými železitými komplexy. Zatímco *S. aureus* byl inhibován rovnoměrně během celé kultivace včetně lag fáze, *E. coli* byla vysoce citlivá pouze ve fázi exponenciál-

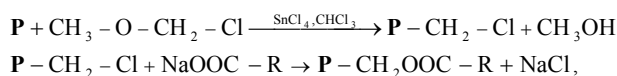
ní a stacionární⁴⁶. Takto modifikované zeolity v přítomnosti 4-chlorfenolu a pentachlorfenolu ovlivňovaly produkci OH[•] růst řasy *Chlorella vulgaris* dvěma způsoby. Samy o sobě na řasu působily cytotoxicky, ale zároveň degradovaly přítomné polutanty, čímž snižovaly jejich toxický účinek⁴⁷.

4.3. Zakotvení kovalentní vazbou

Zachycení fotosenzitivátoru na nosič kovalentní vazbou je možné provést dvěma způsoby – polymerací s chemicky navázanými senzitivátory, nebo reakcí senzitivátoru s již sesíťovaným polymerem⁴⁸. Při imobilizaci fotosenzitivátorů, a to zejména těch absorbujících v UV oblasti, je nutné chránit polymer před jeho degradační způsobenou sekundárními reakcemi excitovaných chromoforů. Nejběžnějším degradačním jevem je odtržení volných radikálů z polymeru, což vede k jeho zesílení a ztrátě chromoforu⁴. Pro imobilizaci je příznivá taková struktura polymeru, ve které tripletové energie senzitivátorů účinně migrují⁴⁹.

Kovalentním navázáním fotosenzitivátoru k nosiči může dojít ke snížení kvantového výtěžku ¹O₂ v důsledku zvýšení aktivační energie fotooxidativního procesu. V případě bengálské červeně vázané na Sepharose (agarosa) a na kuličkách z porézního křemičitého skla Glycophase G (modifikovaného γ-glycerilpropylsilyl skupinami) byl tento rozdíl, pozorovaný při fotooxidaci zbytků aminokyselin v proteinech, připisán esterifikaci jejich karboxylových skupin imobilizací⁵⁰. Při nízké koncentraci (50 mg g⁻¹) bengálské červeně vázané na polymer může být snížení kvantového výtěžku ¹O₂ zapříčiněno také omezením pohyblivosti chromoforu⁵¹. Naopak při vyšší koncentraci vázaného barviva může blízkost jeho molekul způsobit samozhášení a tím snižovat účinnost fotoprocesu⁵².

Jediným komerčním fotosenzitivujícím materiálem, využívaným zejména pro chemické oxidace, je Sensitox[®] od Hydron Laboratories Inc.⁵³ Jedná se o bengálskou červeně imobilizovanou na částice chloromethylovaného divinylbenzen-styrenového kopolymery technikou použitou při syntéze peptidů. V uvedeném případě bylo zakotvení provedeno tak, jak je naznačeno níže⁵⁴:



kde **P** je poly(styren-co-divinylbenzen) a NaOOC-R je sodná sůl bengálské červeně. Přestože takto ukotvená bengálská červeně byla stabilní v řadě organických rozpouštědel (methylenchloridu, chloroformu, tetrachlormethanu, chlorotrifluormethanu, benzenu, toluenu, pentanu, sirouhliku, acetonu a methanolu), vlivem vysoké hydrofobicity nosiče byla její účinnost oproti volné bengálské červeně nízká⁵⁵. Na druhé straně však mechanická stabilita těchto částic byla tak vysoká, že mohly být za účinného míchání⁵⁶ aplikovány 6–8krát po dobu 2 až 4 h.

Na stejný nosič byly podobně navázány také přírodní makrocyclické porfyriny, chlorofylin a hematoporfyrin. Ty však oproti bengálské červeně vykazovaly nižší fotoúčinn-

nost⁵⁵. Rozšíření pásu absorbovaného záření a tedy i účinnosti bylo dosaženo synergií různých porfyrinů. Celková účinnost přenosu e^- mezi donory a akceptory vlivem zamezení agregace obecně vzrůstá v pořadí: rozpuštěné porfyriny < porfyriny na neionogenních polymerech < porfyriny na anionických polymerech < porfyriny na kationických polymerech⁵⁷.

Vůči *E. coli* byly fotoaktivní polystyrenové kuličky s kovalentně vázanou bengálskou červení, eosinem a methylenovou modří. Ta byla neúčinnější³⁶. V nedávné studii inaktivace bakterií *E. coli* a *S. faecalis* však byla zjištěna klesající fotoaktivita barviv na polystyrenových kuličkách v pořadí bengálská červeně > methylenová modř > methylová červeně > methylová zeleně⁵⁸. Oproti běžné vodě bylo v případě bengálské červeně dosaženo ve vodě deuterované vyšší rychlosti fotoinaktivace⁵⁹, což je dáno delší dobou života $^1\text{O}_2$ v daném prostředí⁶⁰. Ve všech případech byla imobilizace provedena postupem vypracovaným Schaa- pem a spol.⁵⁴ Bakterie *E. coli* byla též usmrcena působením 5,10,15,20-tetrakis(4-sulfonatofenyl)porfyrinu a jeho komplexů s Cd^{2+} a Zn^{2+} kovalentně vázaných též na chlor-methylovaný polystyren⁶¹.

Kovalentní imobilizací protoporfyrinu IX a jeho zinečnatého komplexu přes ethylendiaminový můstek na nylonová vlákna s naroubovanou polyakrylovou kyselinou byly připraveny antimikrobiální materiály, u nichž rentgenová analýza prokázala, že povrch nylonových vláken byl porfyriny pokryt⁶² zhruba z 3,5 %. Při intenzitě záření 60 000 lux po dobu 30 min byly oba zakotvené komplexy aktivní vůči *S. aureus* a *E. coli*, zatímco při 10 000 lux byl účinný pouze Zn^{2+} komplex⁶³.

Ftalocyaniny jsou látky podobné svou strukturou a chováním porfyrinům. Zn(II) -ftalocyanin byl po předchozí reakci s thionylchloridem zakotven kovalentní vazbou na chitosanovou membránu. Její fotobaktericidní účinek byl prokázán v modelových suspenzích⁶⁴ o počáteční hustotě 10^9 JTK ml^{-1} pro *E. coli* po 145 min, zatímco pro *P. aeruginosa* až po 180 min. K chitosanové membráně zpevněné nylonovou síťkou ($12,5 \times 8 \text{ cm}^2$, $150 \mu\text{m}$) byl přes sulfonamidový můstek připojen i Zn^{2+} komplex 1,8,15,22-tetrakis(sulfonáto)ftalocyaninu ($9 \mu\text{g cm}^{-2}$). Membrána měla modrozelenou barvu a její spektrum bylo podobné spektru ftalocyaninu agregovaného v roztoku. Při počáteční koncentraci buněk 10^5 JTK ml^{-1} *E. coli* došlo v cirkulačním fotoreaktoru po 160 min k jejich snížení pouze o 2 řády, což není pro kontinuální dezinfekci vody dostačující. Devět měsíců stará membrána vykazovala za stejnou dobu desinfekční účinek o jeden řád nižší³⁹.

Fotoantimikrobiální filmy na bázi esteru celulosy s laurovou kyselinou jako plastifikátorem a protoporfyrinem IX byly připraveny v homogenním DMA/LiCl médiu. První krok zahrnoval esterifikaci celulosy v systému porfyrin/TsCl/pyridin. Následovala esterifikace celulosy s navázaným porfyrinem v systému laurová kyselina/TsCl/pyridin. Úplná inaktivace mikroflóry, *E. coli* a *S. aureus*, byla při působení osvětlení o intenzitě $1,7 \text{ mW cm}^{-2}$ na zaočkovaném agaru pozorována od 52 % porfyrinu

(vztaženo na 100 jednotek anhydroglukosy) v polymeru. Navíc bylo ověřeno, že kontinuální ozáření tohoto polymeru čtyřmi 150W halogenovými žárovkami po dobu 48 h spektrum imobilizovaného porfyrinu nezměnilo²⁹.

4.4. Zachycení v polymerní matici

Tento typ imobilizace představuje alternativu k zakotvení kovalentní vazbou. V tomto případě je vhodné rozlišit dva způsoby: zachycení v pórech již zesíťovaného polymeru (impregnace) nebo v průběhu jeho přípravy (entrapment). Aby mohl senzitivátor plnit svoji funkci, je nutné, aby byl polymer dostatečně transparentní, s nízkým rozptylem světla⁴. Musí se také brát v úvahu limitní hodnota difuze kyslíku v pórech. Ten urazí v polymerech vzdálenost⁶⁵ přibližně 40 nm za 40 μs .

Impregnace byla použita při imobilizaci celkem 26 komerčně dostupných barviv do filmů z acetátu celulosy. Jako neúčinnější fotooxidativní barviva byla vyhodnocena⁶⁶ bengálská červeně, safranin O a bipyridyl- Ru^{2+} komplex. Fotomikrobicidní desinfekce těchto membrán s bengálskou červení byla provedena v modelových suspenzích kontaminovaných bakteriálními druhy *E. coli* a *P. aeruginosa* o počáteční hustotě 10^7 JTK ml^{-1} . *E. coli* byla totálně usmrcena po 105 min ozařování, zatímco denzita kmene *Pseudomonas* klesla⁶⁴ během 150 min pouze o 70 %. Stejný polymer obsahující toluidinovou modř o též zpomalil růst patogenů *S. aureus* a účinněji i *P. aeruginosa*. Těto skutečnosti by bylo možné využít k vytvoření antimikrobiálních povrchů v nemocnicích, kde je *S. aureus* běžně přítomným patogenem⁶⁷. Celuloacetátové membrány byly také impregnovány zinečnatým komplexem 5,10,15,20-tetrafenylporfyrinu (ZnTPP) ve výsledné koncentraci 3 hm.%. Jejich absorpční spektrum bylo shodné se spektrem homogenního ZnTPP , přičemž vykazovaly fluorescenci s dobou⁶⁸ života nižší než 10 ns.

Polymethylmethakrylát impregnovaný α -tertienylem vykazoval po ozáření UV světlem (300–400 nm) vzrůstající inaktivaci bakteriálních suspenzí v pořadí *P. aeruginosa* < *E. coli* < *S. aureus*. Práce⁶⁹ zmiňuje i fototoxicitu tohoto filmu vůči bakteriálním spórám a konidiím plísní. Antioxidační enzymy (např. katalasa, superoxidodismutasa, křenová peroxidasa) a hovězí sérový albumin v koncentraci $10 \mu\text{g ml}^{-1}$ a dále také 10mM roztoky manitolu a aminokyselin (histidinu, methioninu a tryptofanu) působily v systému jako zhášče $^1\text{O}_2$ a chránily tak testující *E. coli* vůči cytotoxickému působení daného materiálu⁶⁹.

Zachycení senzitivátoru při přípravě polymerního nosiče – entrapment – se často provádí metodou sol-gel^{70,71}. Tato metoda umožňuje připravit transparentní materiály v široké škále chemického složení od čistě anorganických až po hybridní organo-anorganické polymery s velkou variabilitou porozity. Při jejich syntéze se vychází z alkoxidů kovů, které jsou katalyticky hydrolyzovány s následnou kondenzací. Vzniklé koloidní systémy, do kterých se obvykle přidává fotosenzitivátor, přechází v gely, jejichž struktura se mění v průběhu stárnutí a je fixována tepelným zpracováním. Přitom je nutné hledat

takové podmínky tvorby gelové matrice (tj. složky výchozí reakční směsi včetně katalyzátorů hydrolyzy a kondenzace alkoxidů, podmínky gelace, stárnutí gelu, parametry sušení a tepelného ošetření), které by minimalizovaly nežádoucí interakce matrice se senzitivizátorem. Jako příklad takového negativního efektu lze uvést protonizaci atomu dusíku volné báze porfinu způsobenou jeho interakcí s povrchovými Si-OH skupinami gelu připraveného hydrolyzou tetraethoxysilanu (TEOS). Tato interakce se spektrálně projevuje posunem a rozšířením Soretova pásu⁷².

E. coli byla zvolena i jako modelový mikroorganismus při ověření antimikrobiální účinnosti dvou zinečnatých komplexů ftalocyaninů, 1,8,15,22-tetrakis(*tert*-butyl)ftalocyaninu (TtBPc) a 1,8,15,22-tetrakis(sulfonáto)ftalocyaninu (TSPc), zakotvených v křemičité matrici získané metodou sol-gel za použití TEOS. Zjištěná vyšší fotoaktivita TSPc oproti TtBPc souvisí zejména s vyšší hydrofobicitou TSPc, která způsobuje, že k zakotvení dochází převážně při povrchu polymeru a ne v jeho objemu. Biologické výsledky korelují s měřením produkce ¹O₂ chemickými metodami⁷³. Jiní autoři^{74,75} popisují syntézu fotomikrobicidního materiálu z TEOS a senzitivizátoru odvozeného od chlorinu(e6) – fotolonu. Tento materiál byl nanesen na jádro optického vlákna. V okolí vlákna, které bylo zalité agarem, došlo po ozáření misek k redukci nárůstu kolonií *E. coli*, izolované z drůbeže a hovězího dobytka, až o 80 %.

Hydrofilní TMPyP a hydrofobní TPP byly imobilizovány metodou sol-gel. Polymerní matrice tvořily tři mezopórezní polysesquioxany lišící se velikostí pórů. Tyto materiály byly porovnány s mikropórezním gelem připraveným z tetramethoxysilanu se zachyceným TMPyP a s polydimethylsiloxanem se zakotveným TPP. S velikostí pórů materiálů korelovala nejen intenzita fluorescence, ale i mikrobicidní účinnost ověřovaná na geneticky modifikované *E. coli*. Polydimethylsiloxan v důsledku svojí kompaktní struktury na mikroorganismus nepůsobil⁷⁶. Fotomikrobicita gelu TMOS s TMPyP způsobovala rovněž redukci růstu *L. helveticus*, *Rhodococcus* sp. a *B. amyloliquefaciens*. Mikroaerofilní laktobacilus byl vůči kyslíku nejcitlivější, naopak aktinomyceta *Rhodococcus* sp. byla nejodolnější pravděpodobně vlivem obsahu karotenoidního barviva⁷⁷.

Roztok epoxidové pryskyřice s bengálskou červení a katalyzátorem síťování byl nanesen na ploché sklo a vytvrzen při laboratorní teplotě. Testy prováděné v průběhu 1 měsíce ukázaly, že pouze ozařovaný povrch s bengálskou červení byl méně porostlý řasou *Scenedesmus quadricauda*⁷⁸.

Hydrofobní TPP byl zachycen do dvou polyuretanových nanotkanin připravených metodou elektropředání z nanovláken získaných z povrchu rotujícího nabitého válce ponořeného v nádrži s roztokem polyuretanu a TPP. Absorpční a fluorescenční spektra nanovláknin byla téměř identická se spektry TPP rozpuštěného v dichlormethanu. Tripletový stav porfyriu zachyceného v hydrofilnější variantě nanotkaniny s přísadkou 0,6 % dodecylsulfátu vykazoval ve vodě a na vzduchu dobu života 20,5, resp.

19,9 μs. Tomu odpovídala doba života produkovaného ¹O₂ 7,5, resp. 10,2 μs. Malé kousky této nanotkaniny byly umístěny na agar, zaočkovaný geneticky modifikovanou *E. coli* DH5-α. Ve srovnání s neosvětlenou miskou, kde rostly kolonie po celém povrchu agaru včetně povrchu tkaniny, tkanina na osvětlené misce vykazovala na svém povrchu samosterilační účinek⁶⁰.

Fenothiazinový derivát methylenové modři byl v průběhu síťování zachycen do uretan-akrylátového a butadien-styrenového kopolymeru. Imobilizace probíhala ve vodném roztoku za laboratorní teploty a poté následovalo vytvrzení fólií při 60 °C. U obou kopolymerů nedocházelo k uvolnění barviva do vodného prostředí. Při ozařování červeným světlem o vlnové délce 615–645 nm byl relativní výtěžek ¹O₂ zachyceného barviva, vztažený k roztoku běžně methylenové modři, přibližně o 2 řády nižší. Smáčivější butadien-styrenový kopolymer vykazoval jak vyšší fotooxidaci 1,3-difenylisobenzofuranu, tak i baktericidní účinky. Ty byly u obou materiálů úměrné koncentraci barviva a době osvětlení. Grampozitivní *Staphylococcus epidermidis* byl vůči fotoprocesu citlivější než gramnegativní *E. coli*⁷⁹.

5,10,15,20-Tetrakis(*p*-aminofenyl)porfyrin (5,7 μg cm⁻²) byl zachycen do chitosanu (25 cm², 80 μm). Absorpční spektrum barviva imobilizovaného v chitosanu bylo opět ve srovnání s volným barvivem rozšířené. Při použití této membrány a *E. coli* v počáteční koncentraci 300 JTK ml⁻¹ bylo při ozařování 500W halogenovou žárovkou dosaženo po 90 min úplné destrukce této bakterie³⁹. Byly připraveny i požitelné antimikrobiální filmy smícháním želatiny s glycerinem jako plastifikátorem a potravinářskými barvivy (0,8 g g_{sus.}⁻¹), sodno-hořečnatým (E-140) a sodno-měďnatým (E-141) chlorofylinem. Filmy byly průhledné se žlutozeleným zabarvením. Jejich fototoxický účinek byl ověřován v modelovém systému na agaru vůči grampozitivním patogenním bakteriím *S. aureus*, *L. monocytogenes* a gramnegativním *E. coli* a *Salmonella* spp. Želatinové filmy působí pravděpodobně tak, že jsou vlivem vysoké aktivity vody v agaru absorbovány na jeho povrch se zaočkovanou kulturou. Molekulám ¹O₂ je tak umožněno dosáhnout buněčné membrány. Tyto testy dále ukázaly, že barvivo je ve filmu distribuováno rovnoměrně. Filmy významně potlačovaly pouze viabilitu grampozitivních bakterií. Při působení 30 000 lux po dobu 5 min želatina s E-140 potlačovala jejich růst o 5 řádů, zatímco želatina s E-141 o 4 řády. Nárůst *S. aurea* při působení filmu E-140 na agaru byl po 15min expozici totálně inhibován nezávisle na intenzitě osvětlení. Film s E-141 vyžadoval pro dosažení stejného inhibičního účinku delší expoziční dobu a vyšší světelnou intenzitu. Pro *L. monocytogenes* byl baktericidní účinek nižší. Pro ověření konzervačního účinku imobilizovaného barviva E-140 na vzorcích reálných potravin (párků) byly použity dva způsoby: zabalení potravin do filmu způsobilo pokles grampozitivních bakterií o 1,5 řádu, zatímco pokrytí ponořením do želatiny o 2 řády⁸⁰.

4.5. Liposomová technika

Na rozdíl od předchozích postupů imobilizace, není cílem enkapsulace do liposomu oddělení a recyklace fotosenzitizátoru, ale jeho opouzdření, které umožňuje proniknutí do intracelulárního prostoru mikrobiální buňky, a to v koncentraci vyšší než při použití volně rozpuštěného senzitivátoru. Kationický liposom působí jako primární činitel při destrukci buněčné stěny a zvyšuje tak její propustnost pro fotosenzitivní barvivo. Fotosenzitivátor je navíc úspěšně přenesen z liposomu do bakteriální buňky jen pokud jeho struktura ztlačně nenaruší nativní trojrozměrnou strukturu lipidového váčku. To bylo zjištěno studiem závislosti velikosti unilamelárních liposomů, jejich fluidity a elektrického náboje na účinnosti fotoinhibice methicilin-rezistentního *S. aurea*. Nejlepší výsledky byly získány imobilizací hematoporfyrinu do monokationického lipidu *N*-[1-(2,3-dioleoyloxy)propyl]-*N,N,N*-trinitilylammonium methylsulfátu (DOTAP). Na druhé straně chlorofyl, který způsobuje podstatnou změnu ve struktuře DOTAP váčků, nevykazoval žádnou detegovatelnou fotocytotoxicitu pro *S. aurea* na rozdíl od toho, co bylo pozorováno pro volné barvivo⁸¹. Navazující studie opět potvrdila nutnost použít při transportu senzitivátoru 5-[4-(1-dodekanoylpyridinium)]-10,15,20-trifenylyporfyrinu (TDPyP) do buňky stafylokoka kladně nabitý liposomový nosič z DOTAP. Takto imobilizovaný porfyrin, vykazující kvantový výtěžek až 0,95, byl vůči testovanému bakteriálnímu patogenu vysoce fotoaktivní. Stejný porfyrin rozpuštěný ve vodném roztoku či inkorporovaný do neutrálního lipidového váčku totiž po ozáření vykazoval jen velice nízkou cytotoxicitu⁸².

Mikrobicidní aktivitu vykazovaly také materiály připravené imobilizací 5,10,15,20-tetrahydroxyfenylchlorinu do kationických liposomů syntetizovaných z dimyristoyl-*sn*-glycerofosfatidylcholinu a čtyř kationických surfaktantů odvozených od *L*-prolinolu. Nejvyšší biologickou aktivitu vůči *S. aureus*, srovnatelnou s volným fotosenzitivátorem, vykazoval liposom syntetizovaný ze surfaktantu (1*S*,2*S*)-*N*-hexadecyl-*N*-methylprolinolinium bromidu v molárním poměru složek 7:3, který při imobilizaci zachytil 77 % chlorinu. U tohoto typu liposomu byl změřen zeta potenciál⁸³ o hodnotě 48 mV.

5. Závěr

V řadě prací shrnutých v přehledných referátech citovaných v tomto článku bylo zjištěno, že jednou z účinných metod cílené destrukce široké škály mikroorganismů je jejich fotodynamická inaktivace. Ta spočívá v působení singletového kyslíku $^1\text{O}_2$ a dalších reaktivních kyslíkových částic ($\text{O}_2^{\cdot-}$, HOO^\bullet , H_2O_2), generovaných ozářením vhodné silně absorbující látky, tzv. senzitivátoru (obvykle barviva porfyrinové, fenazínové či ftalocyaninové řady) v přítomnosti kyslíku.

Cytotoxicita systémů kyslík – volný fotosenzitivátor byla studována s cílem jejich využití v lékařství, k degradaci mikroorganismů rezistentních k antibiotikům,

dezinfekci vody i konzervaci potravin.

Dosažené příznivé výsledky se staly podnětem k zakotvení fotosenzitivátorů na vhodných nosičích. Očekávanou předností měla být nejen možnost jejich snadné separace, ale i opětovného využití.

Imobilizované fotosenzitivátory byly připraveny metodami ověřenými při zakotvení enzymů: adsorpcí, vytvořením kovalentní vazby mezi vhodně substituovaným fotosenzitivátorem a nosičem, zachycením v pórech polymerního nosiče (impregnace) nebo zabudováním fotosenzitivátoru do polymeru v průběhu jeho přípravy (tzv. entrapment). Další technikou se stala enkapsulace fotosenzitivátoru do liposomů.

K imobilizaci byla využita řada materiálů jak anorganických, jako porézní sklo a zeolity, dále organokřemičité gely a xerogely, tak i široká škála přírodních a syntetických polymerů.

Při aplikaci jednotlivých imobilizačních metod bylo zjištěno, že opouzdření liposomy umožnilo proniknutí fotosenzitivátoru do intracelulárního prostoru buňky, a to v koncentraci vyšší než při použití nezakotveného analogu. Vzhledem k absenci tohoto příznivého efektu, fotosenzitivátory imobilizované dalšími výše uvedenými metodami měly obvykle nižší cytotoxickou účinnost ve srovnání s volným analogem.

V této souvislosti je však nutné uvést, že v řadě prací měla volba nosiče a senzitivátoru charakter tzv. vyhledávacího studia, aniž by soustavnější pozornost byla věnována detailnějšímu porovnání testovaných systémů. Relativně malá pozornost byla dosud věnována i vlivu fyzikálně-chemických a texturních vlastností nosiče (např. porozity materiálu a jeho hydrofobicity) na cytotoxický účinek imobilizovaného fotosenzitivátoru. Obě výše uvedená omezení tak stěžují dospět v tomto směru k obecnějším závěrům.

Závěrem lze říci, že i přes často nižší cytotoxickou účinnost ve srovnání s volnými fotosenzitivátory výsledky některých prací naznačují, že imobilizované analogy by se mohly stát jejich výhodnou alternativou. To platí zejména pro využití k dezinfekci pitné vody, jako aditiva do nátěrových hmot, či k výrobě fotodezinfekčních tkanin a membrán.

Práce vznikla v rámci projektů GA ČR č. 203/06/1244 a MŠMT ČR č. OC121.

Seznam použitých zkratk

BDS	butadien-styrenový kopolymer
Cd(II)TPP	kademnatý komplex 5,10,15,20-tetrafenylporfyrinu
CdTPPS	kademnatý komplex 5,10,15,20-tetrakis(4-sulfonatofenyl)porfyrinu
CeI ⁺ /RSD ⁴⁻	celulosaová membrána s imobilizovaným Ru ²⁺ komplexem tris(1,10-fenanthrolinyl)-4,7-bis(benzensulfonátu)
Cu(II)TPP	měďnatý komplex 5,10,15,20-tetrafenylporfyrinu

DMPC	dimyristoyl- <i>sn</i> -glycerofosfatidylcholin
DNA	deoxyribonukleová kyselina
DOTAP	<i>N</i> -[1-(2,3-dioleoyloxy)propyl]- <i>N,N,N</i> -trinitilylammonium methylsulfát
Fe(III)TPPCL	chloroželezitý komplex 5,10,15,20-tetrafenylporfyrinu
Fs ^{•+}	aktivní radikál fotosenzitizátoru
GMM	geneticky modifikovaný mikroorganismus
JTK	jednotky tvořící kolonie (počet buněk)
MB	methylenová modř
Mn(III)TPPCL	chloromanganitý komplex 5,10,15,20-tetrafenylporfyrinu
mTHPC	5,10,15,20-tetrahydroxyfenylchlorin
Ny ⁺ /RSD ⁴⁺	nylonová membrána s imobilizovaným Ru ²⁺ komplexem tris(1,10-fenanthrolinyl-4,7-bis(benzensulfonátu))
OH [•]	hydroxylový radikál
O ₂ ^{•-}	superoxidový anion
PMMA	polymethylmethakrylát
PP IX	protoporfyrin IX
pSil/RBN ²⁺	porézní silikonová membrána s imobilizovaným Ru ²⁺ komplexem tris(4,4'-dinonyl-1,10-fenanthrolinu)
pSil/RDP ²⁺	porézní silikonová membrána s imobilizovaným Ru ²⁺ komplexem tris(4,7-difenyl-1,10-fenanthrolinu)
PUA	uretán-akrylátový kopolymer
PUFA	polynenasycené mastné kyseliny
PUR	polyuretan
PVDF ⁺ /RSD ⁴⁺	polyvinylidendifluoridová membrána s imobilizovaným Ru ²⁺ komplexem tris(1,10-fenanthrolinyl-4,7-bis(benzensulfonátu))
<i>p</i> -TAPP	5,10,15,20-tetrakis(<i>p</i> -aminofenyl)porfyrin
<i>p</i> -THPP	5,10,15,20-tetrakis(<i>p</i> -hydroxyfenyl)porfyrin
RB	bengálská červeň
ROS	reaktivní kyslíkové částice
Sub	substrát
Sub _{ox}	oxidovaný substrát
Sub ^{•-}	radikál substrátu
Styren-DVB	poly(styren- <i>co</i> -divinylbenzen)
TBO	toluidinová modř
TDPyP	5-[4-(1-dodekanoylpyridinium)]-10,15,20-trifenylporfyrin
TMPyP	tetrakis(<i>N</i> -methyl-4-pyridinyl)porfyrin
TPP	tetrafenylporfyrin
TPPS	5,10,15,20-tetrakis(4-sulfonatofenyl)porfyrin
Tris-EDTA	tris(hydroxymethyl)aminomethan-ethylen-diaminooctová kyselina
TSPc	1,8,15,22-tetrakis(sulfonáto)ftalocyanin
TtBPc	1,8,15,22-tetrakis(<i>tert</i> -butyl)ftalocyanin
ZnPc	zinečnatý komplex ftalocyaninu
ZnPcS	zinečnatý komplex 1,8,15,22-tetrakis(sulfonato)ftalocyaninu
ZnPP IX	zinečnatý komplex protoporfyrinu IX
Zn(II)TPP	zinečnatý komplex tetrafenylporfyrinu

ZnTPPS	zinečnatý komplex 5,10,15,20-tetrakis(4-sulfonatofenyl)porfyrinu
⁰ Fs	základní stav fotosenzitizátoru
¹ Fs	první excitovaný singletový stav fotosenzitizátoru
³ Fs	první excitovaný tripletový stav fotosenzitizátoru
¹ O ₂	singletový kyslík
³ O ₂	základní stav tripletového kyslíku

LITERATURA

1. Raab O.: *Z. Biol.* 39, 524 (1900).
2. Singh A., Parmeshwari, Jain S. K.: *Poll. Res.* 22, 19 (2003).
3. Lukšienė Ž.: *Food Technol. Biotechnol.* 43, 411 (2005).
4. Julliard M. v knize: *Homogenous Photocatalysis* (V. M. Chanon, ed.), str. 221. Wiley, New York 1997.
5. Mosinger J., Mička Z.: *Chem. Listy* 88, 212 (1994).
6. Kubát P.: *Chem. Listy* 90, 515 (1996).
7. Lang K., Mosinger J., Wagnerová D. M.: *Chem. Listy* 99, 211 (2005).
8. Jori G., Coppellotti O.: *Anti-Infect. Agents Med. Chem.* 6, 119 (2007).
9. Sigler K., Chaloupka J., Brozmanová J., Stadler N., Höfer M.: *Folia Microbiol.* 44, 587 (1999).
10. Liu S.: *Biosci. Rep.* 17, 259 (1997).
11. Halliwell B., Gutteridge J.: *Arch. Biochem. Biophys.* 246, 501 (1986).
12. Zhang Y., Marcillat O., Giulivi C., Ernster L., Davies K.: *J. Biol. Chem.* 265, 16330 (1990).
13. Valentine J., Wertz D., Lyons T., Liou L.-L., Goto J., Gralla E.: *Opinion Chem. Biol.* 2, 253 (1998).
14. Khan A., Wilson T.: *Chem. Biol.* 2, 437 (1995).
15. Barr D., Gunther M., Deterling L.: *J. Biol. Chem.* 271, 15498 (1996).
16. Mason R. P., v knize: *Free Radicals in Biology and Environment* (Minisci V. F., ed.), str. 1. Oxford University Press, Dordrecht 1997.
17. Karam L., Bergtold D., Simic M.: *Free Radical Res. Commun.* 12-13, 11 (1991).
18. Di Mascio P., Bechara E., Medeiros M., Briviba K., Sies H.: *FEBS Lett.* 355, 287 (1994).
19. Storz G., Tartaglia L., Farr S., Ames B.: *Trends Genet.* 6, 363 (1990).
20. Zhulin I., Johnson M., Taylor B.: *Biosci. Rep.* 17, 335 (1997).
21. Leke N., Grenier D., Goldner M., Mayrand D.: *Microbiol. Lett.* 174, 347 (1999).
22. Takeuchi T., Nakaya Y., Kato N., Watanabe K., Morimoto K.: *FEBS Lett.* 450, 178 (1999).
23. Lynch M., Kuramitsu H.: *Infect. Immun.* 67, 3367 (1999).
24. Lehmann Y., Meile L., Teuber M.: *J. Bacteriol.* 178, 7152 (1996).
25. Mason C. A., Hamer G., Bryers J.: *FEMS Microbiol. Rev.* 36, 373 (1986).

26. Nystrom T.: *FEMS Microbiol. Rev.* 21, 283 (1998).
27. Faragher R., Kipling D.: *Bioassays* 20, 985 (1998).
28. Jazwinski S.: *Science* 273, 54 (1996).
29. Krouit M., Granet R., Branland P., Verneuil B., Krausz P.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 16, 1651 (2006).
30. Jiménez-Hernández M., Manjón F., García-Fresnadillo D., Orellana G.: *Sol. Energy* 80, 1382 (2006).
31. Yoshida A., Kakegawa N., Ogawa M.: *Res. Chem. Intermed.* 29, 721 (2003).
32. Lewis C., Scouten W.: *Biochim. Biophys. Acta* 444, 326 (1976).
33. Valduga G., Bertoloni G., Reddi E., Jori G.: *J. Photochem. Photobiol., B* 21, 81 (1993).
34. Krishna C., Lion Y., Riesz P.: *Photochem. Photobiol.* 45, 1 (1987).
35. Mosinger J., Losinská K., Abrahámová T., Veiserová S., Mička Z., Němcová I., Mosinger B.: *Anal. Lett.* 33, 1091 (2000).
36. Savino A., Angeli G.: *Water Res.* 19, 1465 (1985).
37. Yokota T., Takahata Y., Hosoya Y., Suzuki K., Takahashi K.: *J. Chem. Eng. Jpn.* 22, 543 (1989).
38. Williams J. R., Orton G., Unger L. R.: *Tetrahedron Lett.* 46, 4603 (1973).
39. Bonnett R., Krysteva M., Lalov I., Artarsky S.: *Water Res.* 40, 1269 (2006).
40. Bonnett R., Buckley D., Burrow T., Galia A., Saville B., Songca S.: *J. Mater. Chem.* 3, 323 (1993).
41. Bonnett R., Evans R., Galia A.: *SPIE* 3191, 79 (1997).
42. Villén L., Manjón F., García-Fresnadillo D., Orellana G.: *Appl. Catal., B* 69, 1 (2006).
43. Manjón F., Villén L., García-Fresnadillo D., Orellana G.: *Environ. Sci. Technol.* 42, 301 (2008).
44. Lang K., Bezdička P., Bourdelande J. L., Hernando J., Jirka I., Kafunková E., Kovanda F., Kubát P., Mosinger J., Wagnerová D. M.: *Chem. Mater.* 19, 3822 (2007).
45. Čík G., Bujdáková H., Šeršeň F.: *Chemosphere* 44, 313 (2001).
46. Čík G., Priesolová S., Bujdáková H., Šeršeň F., Potheöová T., Krištín J.: *Chemosphere* 63, 1419 (2001).
47. Šeršeň F., Priesolová S., Čík G.: *Fresenius Environ. Bull.* 16, 1492 (2007).
48. Faust D., Funken K.-H., Horneck G., Milow B., Ortner J., Sattlegger M., Schäfer M., Schmitz C.: *Sol. Energy* 65, 71 (1999).
49. Irie S., Irie M., Yamamoto Y., Hayashi K.: *Macromolecules* 8, 424 (1975).
50. Llorca F., Iborra J., Lozano J.: *Photobiochem. Photobiophys.* 5, 105 (1983).
51. Neckers D. C.: *React. Polym. Ion Exch. Sorbents* 3, 277 (1985).
52. Martínez-Utrilla R., Catalina F., Sastre R.: *J. Photochem. Photobiol., A* 44, 187 (1988).
53. van Laar F., Holsteyns F., Vankelecom I., Smeets S., Dehaen W., Jacobs P.: *J. Photochem. Photobiol., A* 144, 141 (2001).
54. Schaap A., Thayer A., Blossey E., Neckers D.: *J. Am. Chem. Soc.* 95, 5820 (1973).
55. Schaap A., Thayer A., Blossey E., Neckers D.: *J. Am. Chem. Soc.* 97, 3741 (1975).
56. Neckers D. C.: *Nouv. J. Chim.* 6, 645 (1982).
57. Wohrle D., Gitzel J., Krawczyk G., Tsuchida E., Ohno H., Okura I., Nishisaka T.: *J. Macromol. Sci. Chem.* A25, 1227 (1988).
58. Singh A., Malodia P., Jain S., Mathur S., Khatri P.: *Ind. J. Microbiol.* 45, 37 (2005).
59. Bezman S., Burtis P., Izod T., Thayer M.: *Photochem. Photobiol.* 28, 325 (1978).
60. Mosinger J., Jirsák O., Kubát P., Lang K., Mosinger Jr. B.: *J. Mater. Chem.* 17, 164 (2007).
61. Inbaraj J., Vinodu M., Gandhidasan R., Murugesan R., Padmanabhan M.: *J. Appl. Pol. Sci.* 89, 3925 (2003).
62. Sherrill J., Michielsen S., Stojiljkovic I.: *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* 41, 41 (2003).
63. Bozja J., Sherrill J., Michielsen S., Stojiljkovic I.: *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* 41, 2297 (2003).
64. Krysteva M., Artarsky S., Kozhukharov S.: *J. Univ. Chem. Technol. Metall.* 38, 793 (2003).
65. Snyder J., Zebger L., Gao Z., Poulsen L., Frederiksen P., Skovsen E., McIlroy S. P., Klinger M., Andersen L. K., Ogilby P. R.: *Acc. Chem. Res.* 37, 894 (2004).
66. Zweig A., Henderson W.: *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* 13, 717 (1975).
67. Wilson M.: *Infect. Cont. Hosp. Ep.* 24, 782 (2003).
68. Wamser C., Calvin M., Graf G.: *J. Membr. Sci.* 28, 31 (1986).
69. Lin Q., Tsuchido T., Takano M.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 35, 585 (1991).
70. Coradin T., Allouche J., Boissière M., Livage J.: *Curr. Nanosci.* 2, 219 (2006).
71. Kandimalla V. B., Tripathi V. S., Ju H.: *Crit. Rev. Anal. Chem.* 36, 73 (2006).
72. Arabei S., Pavich T., Solov'ev K.: *J. Appl. Spectrosc.* 68, 66 (2001).
73. Artarsky S., Dimitrova S., Bonnett R., Krysteva M.: *Sci. World J.* 6, 374 (2006).
74. Podbielska H., Ulatowska-Jarża A.: *Bull. Pol. Acad. Sci., Tech. Sci.* 53, 261 (2005).
75. Ulatowska-Jarża A., Zychowicz J., Hołowacz W., Bauer J., Razik J., Wieliczko A., Podbielska H., Müller G., Stręk W., Bindig U.: *Med. Laser Appl.* 21, 177 (2006).
76. Rychtáriková R., Kuncová G., Šabata S., Hetflejš J., Šviráková E.: *XV International Workshop on Bioencapsulation, Vienna, Austria, 6-8 Sept. 2007. Book of Abstracts, P3-06, str. 1.*
77. Rychtáriková R., Kuncová G., Kruliková T., Šviráková E., Hetflejš J.: *XVI International Workshop on Bioencapsulation, Dublin, Ireland, 4-6 Sept. 2008, Book of Abstracts, P19, str. 1.*
78. Dallakyan G., Telitchenko M., Ageeva I., Spirina T.: *Vestnik Mosk. Univ., Ser. XVI Biol.* 0, 45 (1992).
79. Wainwright M., Byrne M. N., Gattrell M. A.: *J.*

- Photochem. Photobiol., B 84, 227 (2006).
80. López-Carballo G., Hernández-Muñoz P., Gavara R., Ocio M.: *Int. J. Food Microbiol.* 126, 65 (2008).
81. Ferro S., Ricchelli F., Mancini G., Tognon G., Jori G.: *J. Photochem. Photobiol., B* 83, 98 (2006).
82. Ferro S., Ricchelli F., Monti D., Mancini G., Jori G.: *Int. J. Biochem. Cell*, B 39, 1026 (2007).
83. Bombelli C., Bordi F., Ferro S., Giansanti L., Jori G., Mancini G., Mazzuca C., Monti D., Ricchelli F., Senato S., Venanzi M.: *Mol. Pharm.* 5, 672 (2008).

R. Rychtáriková and G. Kuncová (*Institute of Chemical Process Fundamentals, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic*): **Immobilized Singlet Oxygen Photosensitizers and Their Antimicrobial Effect**

Advances in the use of immobilized photosensitizing dyes for singlet oxygen ($^1\text{O}_2$) production are surveyed. The main characteristics of the photoexcitation process and its biological importance are mentioned. The photosensitizers (porphyrin and phthalocyanine derivatives, phenothiazine dyes), the methods of their immobilization (adsorption, covalent bonding and incorporation into polymers), the supports used (silica, silicon matrices, styrene-divinylbenzene copolymers, polyurethanes, polyamides, epoxy resins, and cellulose acetates) are discussed. Bioactivity of the products and their potential applications (disinfection of potable water, additives to antimicrobial paints, membranes, and fabrics) are also mentioned.



19. CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ KONFERENCE S MEZINÁRODNÍ ÚČASTÍ

APROCHEM 2010

TECHNOLOGIE • ROPA • PETROCHEMIE • POLYMERY • BEZPEČNOST • PROSTŘEDÍ
19. – 21. DUBEN 2010 • KOUTY NAD DESNOU • JESENÍKY • HOTEL DLOUHÉ STRÁNĚ

PCHE • APROCHEM 2010 • Na Dračkách 13, 162 00 Praha 6 • Tel/Fax: 220 518 698 •
Mobil: 607 671 866, E-mail: pche@csvts.cz • www.aprochem.cz

Připravuje PCHE s ČSPCH, ČSCH, ČSCHL, VŠCHT Praha, SCHP ČR, ÚCHP AV ČR.

ODPADOVÉ FÓRUM 2010

5. ROČNÍK ČESKO-SLOVENSKÉHO SYMPOSIA • VÝSLEDKY VÝZKUMU A VÝVOJE
PRO ODPADOVÉ HOSPODÁŘSTVÍ • 21. – 23. DUBEN 2010 • KOUTY NAD DESNOU •
HOTEL DLOUHÉ STRÁNĚ

CEMC – České ekologické manažerské centrum, Jevanská 12, 100 31 Praha 10
Tel.: 274 784 448, 723 950 237, fax: 274 775 869, e-mail: symposium@cemc.cz, www.odpadoveforum

V rámci obou akcí doprovodná technická výstavka.

Firemní komerční prezentace a loga v tištěných materiálech i na CD ROM.

Příhlášky přednášek prosíme do 31. 1. 2010, plná znění elektronicky do 15. 3. 2010.

2. cirkulář s Odborným programem a Příhláškou účasti vyjde koncem února 2010.

Příhlášky účasti budou žádány do 31. 3. 2010.

Registrace na jedné z akcí umožní účast na obou za výhodných podmínek.

Nepřehlédněte prosím nové místo konání v Koutech, Jeseníky. Sledujte web.

Zveme Vás k účasti a těšíme se na společné setkání.

METODY DETEKCE A CHARAKTERIZACE *Campylobacter* sp.

IGOR HOCHEL

Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
igor.hochel@vscht.cz

Došlo 27.4.09, přijato 5.6.09.

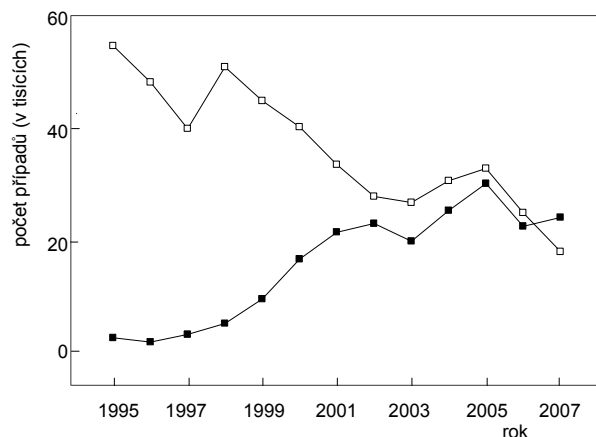
Klíčová slova: *Campylobacter*, gastroenteritis, Gullain-Barré syndrom, fenotypizace, genotypizace, serotypizace

Obsah

1. Úvod
2. Morfologické a biochemické vlastnosti a metabolismus kampylobakterií
3. Klinické projevy onemocnění způsobené kampylobakteriemi, výskyt a způsob přenosu
4. Izolace kampylobakterií
5. Rychlé metody detekce termofilních kampylobakterií
 - 5.1. Imunochemické metody
 - 5.2. Molekulárně biologické metody
6. Metody identifikace a charakterizace kampylobakterií
 - 6.1. Fenotypové testy
 - 6.2. Serologické testy
 - 6.3. Molekulárně biologické metody
 - 6.4. Ostatní metody

1. Úvod

Termotolerantní bakterie rodu *Campylobacter* se v posledních více jak deseti letech stávají významnými původci alimentárních nákaz v Evropě, USA a dalších rozvinutých zemích. Např. v roce 2005 bylo v celé Evropské unii zaznamenáno 195 426 potvrzených případů kampylobakterios¹. V řadě zemí počet případů onemocnění vyvolaných kampylobakteriemi přerostl počet enteritid způsobených salmonelami^{2,3}. Prudký nárůst kampylobakterióz byl zaznamenán od konce 90. let minulého století až do roku 2005 také v České republice (obr. 1). Kampylobakterie byly původně popsány jako zvířecí patogeny a byly zařazeny do rodu *Vibrio*. V roce 1947 Vincent a spol. prokázali patogenitu těchto nových vibríí tím, že úspěšně izolovali *V. fetus* z krve gravidních žen, postižených dlouhodobým horečnatým onemocněním s následným spontánním potratem. O deset let později Kingová našla v krvi pacienta mikroorganismus, který morfologicky odpovídal druhu *V. fetus*, avšak který se odlišoval svými biochemickými a antigenními vlastnostmi. Toto



Obr. 1. Počet případů onemocnění způsobené bakteriemi rodu *Campylobacter* a *Salmonella* v České republice v letech 1995 až 2007; ■ kampylobacterií, □ salmonelózy, zdroj: <http://www.szu.cz/data/infekce-v-cr>

nové species označila termínem „related vibrio“. Počet infekcí prokazatelně způsobených touto bakterií byl vzhledem k nedostatečně účinným izolačním technikám, až do začátku 70. let nízký. V r. 1963, na základě stanovení obsahu guaninu a cytosinu v molekule DNA a podle biochemických charakteristik navrhli Sebald a Véron⁴ začlenit *V. fetus* a *V. bubulus* do nového rodu *Campylobacter*. O deset let později Véron a Chatelain⁵ vypracovali komplexní taxonomii tohoto rodu a definovali 4 druhy: *C. fetus*, *C. coli*, *C. jejuni* a *C. sputorum*. Rod *Campylobacter* byl postupně rozšiřován a revidován, a v roce 1991 Vandamme a De Ley⁶ navrhli vytvořit novou čeleď *Campylobacteriaceae*. Současná taxonomie zahrnuje do této čeledi 3 rody: *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Sulfurospirillum* a nesprávně pojmenovaný druh *Bacteroides ureolyticus*. Samotný rod *Campylobacter* je tvořen 18 více či méně genotypicky homologními druhy: *Campylobacter canadensis*, *C. coli*, *C. concisus*, *C. curvus*, *C. fetus* subsp. *fetus*, *C. fetus* subsp. *veneralis*, *C. gracilis*, *C. helveticus*, *C. hominis*, *C. hyointestinalis* subsp. *hyointestinalis*, *C. hyointestinalis* subsp. *lawsonii*, *C. insulaenigrae*, *C. jejuni* subsp. *doylei*, *C. jejuni* subsp. *jejuni*, *C. lanienae*, *C. lari*, *C. mucosalis*, *C. rectus*, *C. showae*, *C. sputorum* bv. *Faecalis*, *C. sputorum* bv. *Sputorum* a *C. upsaliensis*.

2. Morfologické a biochemické vlastnosti a metabolismus kampylobakterií

Buňky většiny druhů kampylobakterií jsou spirálovité, nebo zakřivené gram negativní tyčinky, o rozměrech

0,2–0,8 × 0,5–5 μm. Tyčinky mohou vytvářet jednu nebo více smyček. Ve starých kulturách přecházejí spirálovité buňky na kokoidní formu. K těmto morfologickým změnám dochází pravděpodobně v důsledku enzymové degradace peptidoglykanové vrstvy⁷. Buňky netvoří spory. Většina druhů je pohyblivá, a to prostřednictvím polárního bičíku na jednom nebo obou koncích buňky. Ostatní druhy, jako je *C. gracilis*, jsou nepohyblivé, nebo jsou naopak vybaveny mnohonásobnými bičíky (*C. showae*). Příležitostně může být u druhu *C. hyointestinalis* pozorována diference v počtu bičíků.

Kampylobakterie jsou chemoorganotrofní mikroorganismy, které nejsou schopny fermentovat ani oxidovat sacharidy. Energií získávají z metabolismu aminokyselin a z metabolismu intermediátů trikarboxylových kyselin. Nehydrolyzují tyrosin, kasein, škrob, ani želatinu. Test na produkci acetoinu (Voges-Proscauer) a test na methylčerveně jsou negativní. S výjimkou *C. gracilis* a některých kmenů *C. concisus* a *C. showae* vykazují oxidázovou aktivitu. Redukují dusičnany, avšak nikoliv dusitany. *C. jejuni* a některé kmeny *C. curvus* jsou schopny hydrolyzovat hippurát. Tohoto testu se v diagnostice používá k diferenciaci klinicky nejvýznamnějších druhů *C. jejuni* a *C. coli*. Žádné species nevytváří pigmenty. Obsah guaninu a cytosinu v molekule DNA se pohybuje v rozmezí od 29 do 47 mol.%.

Optimální růstová teplota je 35–37 °C, růst termofilních druhů je při izolaci kampylobakterií zvýhodněn kultivací při teplotě 42–43 °C. Všechny kampylobakterie rostou za mikroaerofilních podmínek s koncentrací kyslíku v rozmezí 3–15 %. Druhy *C. concisus*, *C. curvus*, *C. gracilis*, *C. rectus*, *C. mucosalis* a *C. showae* vyžadují pro mikroaerobní růst, jako donor elektronů, přítomnost mravenčanu nebo vodíku.

3. Klinické projevy onemocnění způsobené kampylobakteriemi, výskyt a způsob přenosu

Kampylobakterie jsou mikrobiálními patogeny člověka a zvířat. Jsou identifikovány jako agens, které vyvolává u člověka akutní průjmová onemocnění, zvláště pak u dětí jak v průmyslově rozvinutých, tak rozvojových zemích. Enteritis vyvolaná kampylobakteriemi vykazuje podobné symptomy jako onemocnění vyvolané salmonelami, nebo shigelami. Jednoznačná diagnóza může být učiněna pouze detekcí kampylobakterií v klinickém materiálu. Mezi nejvýznamější patogeny se řadí termofilní druhy *C. jejuni*, *C. coli*, *C. hyointestinalis* a druh *C. fetus* subsp. *fetus*. Nebude-li uvedeno jinak, bude se následující text týkat převážně termofilních kampylobakterií.

Kampylobakteriíza vyvolaná *C. jejuni* nebo *C. coli* je choroba, která se projevuje po 1–7 dnech inkubace bolestmi břicha následovanými průjmy. Postižení mohou vykazovat další nespecifické příznaky, jako je horečka, bolest hlavy, závrať, myalgie, popř. zvracení. Bolest břicha se může stávat nepřetržitou, intenzivní a může se šířit do pravé

jámy kyčelní a tak komplikovat diagnózu. Po 1 až 2 dnech onemocnění se u 15 % pacientů objevuje ve stolici krev. Průběh onemocnění u dětí je poněkud odlišný. Horečka se často nevyskytuje, naopak zvracení je časté. Až u 92 % infikovaných dětí ve věku do 1 roku se objevuje krev ve stolici⁸. Ačkoliv vlastní kampylobakteriíza není obvykle život ohrožující onemocnění, závažnější jsou komplikace popř. postinfekční následky, jako je apendicitis, colitis, erythema nodosum u žen, masivní střevní krvácení, bakterémie zvláště u pacientů s oslabeným imunitním systémem, hepatitis, pankreatitis, cholecystitis, potrat, hemolyticko-uremický syndrom, reaktivní artritida, Reiterův syndrom a Guillain-Barré syndrom (GBS)⁹. GBS je zánětlivá polyneuropatie způsobující neuromuskulární paralýzu. Klinicky se syndrom projevuje smyslovými poruchami, bolestí, rychle postupující slabostí dolních a horních končetin, ochabnutím dýchacích svalů, popř. svalovou paralýzou. Onemocnění vyvolaná jednotlivými druhy rodu *Campylobacter* jsou uvedena v tab. I.

Kampylobakterie se vyskytují ve střevním traktu mnoha volně žijících i domácích zvířat a ptáků^{10–13}. Člověk se nejčastěji nakazí konzumací kontaminovaných potravin, vody a syrového, nebo nedostatečně pasterizovaného mléka. *Campylobacter* sp. byl izolován z drůbežího, hovězího a vepřového masa a masných výrobků, ústřic, slávek, hřebenatky a krabů, hub a zeleniny¹⁴. Maso a masné výrobky jsou obvykle kontaminovány v průběhu porážky a následného zpracování masa^{15,16}. Kampylobakterie jsou citlivé na zvýšené teploty, avšak jsou schopny přežít v potravinách při teplotách nižších než 0 °C až po dobu 112 dní. Infekce proto může být způsobena manipulací a konzumací nedostatečně tepelně ošetřených potravin a kontaminací potravin, které nebyly tepelně upraveny¹⁷, avšak může být šířena nejen kontaminovanými potravinami, ale i přímým kontaktem s infikovanými zvířaty¹⁸, nebo přenosem z člověka na člověka¹⁹.

4. Izolace kampylobakterií

Kampylobakterie je možné izolovat jednak filtrační metodou, nebo kultivací na selektivním médiu. Filtrační metody jsou používány především pro testování klinického materiálu, který je bohatý na vitální buňky kampylobakterií. Sterilní filtr s póry o velikosti 0,65 nebo 0,45 μm je umístěn na neselektivní popř. selektivní krevní agar. Na filtr se aplikuje 10–12 kapek vzorku emulzifikovaného ve fyziologickém roztoku. Využívá se tak pohyblivosti kampylobakterií, které procházejí póry filtru a separují se od ostatní mikroflóry^{20,21}. Jinou alternativní filtrační metodou je aplikace membránových filtrů Sartorius. Po přefiltrování vzorku se filtrát aplikuje na neselektivní nebo selektivní růstové médium²². Kultivace se provádí za mikroaerofilních podmínek, izolace H₂ dependentních druhů probíhá v atmosféře obsahující 15 % CO₂ a 85 % H₂.

Další možností izolace kampylobakterií je aplikace selektivních médií. Metoda se uplatňuje nejen při zpracování klinického materiálu, ale také při izolaci *Campylo-*

Tabulka I

Onemocnění vyvolaná, nebo indukovaná jednotlivými druhy rodu *Campylobacter*

Druh	Zdroj	Onemocnění	
		člověk	zvířata
<i>C. canadensis</i>	jeřáb bělohřbetý (<i>Grus americana</i>)	?	?
<i>C. coli</i>	prase, drůbež, skot, ovce ptáci	gastroenteritis, septikémie	gastroenteritis
<i>C. concisus</i>	člověk	nemoci dásní, gastroenteritis	žádné
<i>C. curvus</i>	člověk	nemoci dásní, gastroenteritis	žádné
<i>C. fetus subsp. fetus</i>	skot, ovce	gastroenteritis, septikémie, potrat	spontánní aborty skotu a ovcí
<i>C. fetus subsp. veneralis</i>	skot	septikémie	infekční sterilita skotu
<i>C. gracilis</i>	člověk	nemoci dásní, empyema, absces	žádné
<i>C. helveticus</i>	kočka, pes	žádné	gastroenteritis
<i>C. hominis</i>	člověk	gastroenteritis	?
<i>C. hyointestinalis</i> subsp. <i>hyointestinalis</i>	prase, skot, křeček, vysoká zvěř	gastroenteritis	enteritis prasat a skotu
<i>C. hyointestinalis</i> subsp. <i>lawsonii</i>	prase	žádné	?
<i>C. isulaenigrae</i>	tuleň, sviňucha	žádné	žádné
<i>C. jejuni subsp. doylei</i>	člověk	gastroenteritis, gastritis, septikémie	žádné
<i>C. jejuni subsp. jejuni</i>	drůbež, prase, skot, ovce, pes, kočka	gastroenteritis, septikémie, meningitis, potrat, proctitis, Guillain-Barré syndrom	gastroenteritis, hepatitida ptáků
<i>C. lanienae</i>	skot, prase, člověk	žádné	žádné
<i>C. lari</i>	ptáci, pes, kočka, opice, koně, tuleň, voda	gastroenteritis, septikémie	gastroenteritis ptáků
<i>C. mucosalis</i>	prase	žádné	nekrotizující enteritis a ileitis prasat
<i>C. rectus</i>	člověk	nemoci dásní	žádné
<i>C. showae</i>	člověk	nemoci dásní	žádné
<i>C. sputorum</i> bv. Faecalis	ovce, skot	žádné	žádné
<i>C. sputorum</i> bv. Sputorum	člověk, skot, prase	gastroenteritis, absces	žádné
<i>C. upsaliensis</i>	pes, kočka	gastroenteritis, septikémie, absces	gastroenteritis psů a koček

bacter sp. z potravin a potravinářských surovin, vody a vzorků životního prostředí. Protože vzorky potravin a vzorky životního prostředí obsahují jen nízké počty buněk kampylobakterií, většinou stresovaných popř. subletálně poškozených, je nezbytné provádět nabohacování kultur. Kampylobakterie jsou nutričně náročné a citlivé na přítomnost kyslíku v růstovém médiu. Selektivní a nabohacovací média proto musí nejen splňovat tyto nutriční nároky, ale musí obsahovat nezbytná zhasedla kyslíkových radikálů (krev, aktivní uhlí). Byly popsány různé kultivační půdy využívající krevní agar popř. agar bez přítomnosti

krve jako bazální médium. Jako selektivní agens jsou využívány různé směsi antibiotik^{23–30}. Avšak žádné z těchto médií nepodporuje růst všech druhů kampylobakterií.

Inkubace zaočkovaných půd při teplotě 42–43 °C podporuje růst termofilních kampylobakterií a inhibuje růst většiny doprovodné mikroflóry. Na druhé straně však bude potlačen růst některých druhů mezofilních kampylobakterií. Izolace mezofilních druhů je náročnější, vzorky se kultivují při teplotě 37 °C, obvykle s prodlouženou dobou kultivace.

V České republice je pro izolaci a průkaz termofilních

kampylobakterií ve výrobcích určených k lidské výživě nebo ke krmení zvířat platná norma ČSN ISO 10272-1 *Mikrobiologie potravin a krmiv – horizontální metoda průkazu a stanovení počtu Campylobacter spp.* Testovaný vzorek se suspenduje do bujony podle Boltona, které obsahuje cefoperazon, vankomycin, trimetoprim a amfotericin B, v poměru 1:10 a kultivuje se za mikroaerofilních podmínek při teplotě 37 °C po dobu 4–6 h a poté při teplotě 41,5 °C po dobu 44–48 h. Pomnožená kultura se očkuje na desoxycholátový agar s aktivním uhlím, cefoperazonem a amfotericinem B a na druhé volitelné médium (modifikovaný agar podle Butzlera, agar podle Skirrowa, agar podle Karmaliho, agar podle Prestona) a to proto, aby se zvýšila pravděpodobnost záchytu požadovaného mikroorganismu. Plotny se inkubují za mikroaerofilních podmínek při teplotě 41,5 °C po dobu 44–48 h. Z každé plotny se vybere 5 charakteristických kolonií a provedou se předběžné testy. Suspektní kolonie jsou pak dále charakterizovány pomocí předepsaných biochemických testů.

5. Rychlé metody detekce termofilních kampylobakterií

5.1. Imunochemické metody

Imunochemické metody představují alternativní techniky detekce kampylobakterií v různých typech vzorků. Výhodou těchto metod je jejich jednoduchost, nízké náklady a možnost testovat velký počet vzorků. Jsou založeny na interakci antigenu se specifickou protilátkou. Aglutinační reakce se stala základem několika komerčně dostupných testů. Všechny využívají latexových částic s imobilizovanými imunoglobuliny, které byly připraveny proti: 1) antigenům různých druhů rodu *Campylobacter* tj. *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* a *C. fetus* subsp. *fetus* (Campyslide, BBL Microbiology System); 2) různým sérotypům *C. jejuni* (Microscreen, Mercia Diagnostics); 3) flagelárnímu antigenu *C. jejuni* (Meritec-Campy, Meridian Diagnostics). Hodinka a Gilligan³¹ prokázali, že Campyslide pozitivně reagoval se 110 izoláty kampylobakterií, avšak vykazoval rovněž křížové interakce s některými kmeny *Pseudomonas aeruginosa*. Nachamkin a Barbagallo³² testovali systém Meritec-Campy, který reagoval se všemi 77 kmeny *C. jejuni*, 17 kmeny *C. coli* a 2 kmeny *C. upsaliensis*, avšak selhal při detekci 6 kmenů *C. lari* a 3 kmenů *C. fetus* subsp. *fetus*. Další autoři testovali komerční test Microscreen a zjistili, že systém reaguje s kmeny druhu *C. jejuni* a *C. coli*, avšak také poskytuje slabou odezvu s ostatními druhy rodu *Campylobacter* a *Helicobacter*, pokud je koncentrace buněk ve vzorku vyšší než 10^5 cfu ml⁻¹ (cit.³³). Komerčně dostupné aglutinační testy byly použity pro detekci kampylobakterií v kuřecím mase³⁴. Falešně negativní výsledky byly pozorovány u vzorků s vysokou koncentrací doprovodné mikroflóry v nabohacovacím médiu.

Byly připraveny protilátky pro detekci a identifikaci

pouze určitých druhů kampylobakterií. Taylor a Chang³⁵ připravili specifickou protilátku proti hlavnímu proteinu vnější membrány (OMP) *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* a *C. upsaliensis*. Jako detekční systém využili autoři metody imunoblotu a ELISA. Lu a spol.³⁶ připravili monoklonální protilátky proti *Campylobacter jejuni* sérotypu 6 (Lior). Tyto protilátky reagovaly se všemi testovanými kmeny *C. jejuni*, *C. coli* a *C. lari*. Rozpoznávanou buněčnou komponentou byl vždy jeden protein, a to: flagelin (62 kDa), protein bičíkového háčku (92 kDa) a protein o molekulové hmotnosti 31 kDa. Autoři rovněž vyvinuli nepřímou kompetitivní metodu ELISA. Detekční limit stanovení se pohyboval v rozmezí 10^5 – 10^7 cfu ml⁻¹. V další studii byly popsány čtyři monoklonální protilátky proti základnímu řetězci (core) lypopolysacharidů *C. fetus*. Jedna protilátka reagovala se všemi 42 kmeny *C. fetus*, ostatní protilátky pak reagovaly s 41 kmeny testovaného souboru. Všechny monoklonální protilátky reagovaly jak se sérotypem A, tak se sérotypem B. Autoři použili připravené preparáty k vývoji nepřímé ELISA. Dosažené detekční limity se lišily podle použité protilátky a pohybovaly se v rozmezí 10^4 – 10^7 cfu ml⁻¹ (cit.³⁷). Hochel a spol.^{38,39} připravili králičí IgG a slepičí IgY proti *C. jejuni* O:23 (Penner) *C. coli* a *C. fetus* subsp. *fetus* a vyvinuli nepřímou kompetitivní ELISA. Králičí protilátky byly specifické, slepičí IgY proti *C. jejuni* O:23 vykazovaly křížové interakce s kmeny *C. jejuni* sérotyp O:3, O:9 (Penner) a sérotypy 10, 18 a 22 (Kahlich). Další křížové interakce byly pozorovány s druhem *C. upsaliensis* a *C. sputorum* bv. *Sputorum*. Byly pozorovány také slabé křížové reakce IgY proti *C. fetus* subsp. *fetus* s kmeny *C. fetus* subsp. *veneralis*. Detekční limity enzymového imunochemického stanovení se pohybovaly v rozmezí $0,3$ – $3,2 \cdot 10^6$ cfu ml⁻¹ pokud byly použity králičí IgG, nebo v rozmezí $0,5$ – $1,8 \cdot 10^5$ cfu ml⁻¹ v případě využití IgY. Autoři testovali vyvinuté techniky ELISA na limitovaném počtu přirozeně a uměle kontaminovaných vzorcích potravin a dosažené výsledky porovnali s výsledky získanými standardní kultivační metodou, PCR a komerčně dostupným testem Singlepath *Campylobacter* Rapid Test (Merck). Horák a Hochel⁴⁰ použili magnetické poly(glycidyl methakrylátové) částice s kovalentně vázanými slepičími IgY při vývoji metody ELISA pro detekci *Campylobacter jejuni*. Detekční limit metody byl $4,8 \cdot 10^6$ cfu ml⁻¹.

Na principu enzymového imunochemického stanovení jsou založeny i další komerčně dostupné testy VIDAS *Campylobacter* kit (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Francie) pro detekci *C. jejuni*, *C. coli* a *C. lari* a EIA-Foss *Campylobacter* enzyme-immunosorbent assay kit (Foss Electric, Dánsko) pro detekci *C. jejuni* a *C. coli*. Hoofar a spol.⁴¹ testovali VIDAS *Campylobacter* kit (EIA-1) a EIA-Foss *Campylobacter* enzyme-immunosorbent assay kit (EIA-2) na vzorcích výkalů skotu a prasat. Citlivost EIA-1 95 % (skot) a 84 % (prasata), citlivost EIA-2 dosáhla hodnot 88 % (skot) a 69 % (prasata). Avšak při studiu specifity dosáhl test EIA-2 pouze 32 %. Bailey a spol.⁴² porovnali Tecra *Campylobacter* Visual Immunoassay (TCVIA)

s kultivačními metodami detekce kampylobakterií v 350 vzorcích kuřat. TCVIA poskytla u 317 vzorků pozitivní výsledek, z toho 4 výsledky byly falešně pozitivní a 22 bylo falešně negativních. Pomocí kultivačních metod se podařilo zjistit přítomnost mikroorganismu v 280 vzorcích, 48 vzorků bylo falešně negativních. Jiná skupina testovala komerčně dostupnou soupravu ProSpecT Microplate Assay na 1205 klinických vzorcích. Nebyly prokázány křížové interakce s doprovodnou mikroflórou. Specifita stanovení byla 97,7 % a citlivost 89,1 % (cit.⁴³). Wei a spol.⁴⁴ použili 4 komerčně dostupné protilátky při vývoji SPR senzoru založeném na povrchové plasmonové rezonanci. Vyvinutý systém byl vysoce specifický k druhu *C. jejuni*. Detekční limit dosáhl hodnoty 10^3 cfu ml⁻¹ v čisté kultuře i ve vzorcích kuřecího masa.

Specifické protilátky mohou být využity nejen pro přímou detekci, ale také pro separaci patogenního mikroorganismu ze vzorku. Yu a spol.⁴⁵ použili magnetických částic s imobilizovaným streptavidinem, na které navázali komplex biotinu a protilátky proti *C. jejuni*. Takto aktivované částice byly smíchány s homogenizovaným vzorkem. Poté byly magnetické částice odděleny od vzorku a aplikovány na Karmaliho agar. Pomocí této metody bylo možné detegovat 10^4 buněk *C. jejuni* v 1 g vzorku. Aby zabránili inhibici polymerázové řetězové reakce komponentami vzorku, použili Docherty a spol.⁴⁶ magnetické částice s imobilizovanou specifickou protilátkou na separaci buněk kampylobakterií od matrice vzorků mléka a kuřecího masa.

5.2. Molekulárně biologické metody

Molekulárně biologické metody založené na řetězové polymerázové reakci (PCR) jsou v současné době široce využívány jak pro detekci kampylobakterií v různých typech vzorků, tak pro další charakterizaci izolovaného mikroorganismu. PCR metody jsou založeny na multiplikaci krátkého fragmentu bakteriálního genomu. Vzniklý produkt je pak separován a vizualizován elektroforézou na agarosovém gelu. Podle požadované specifity mohou být využity různé oblasti genomu. Je-li požadována detekce pouze na úrovni rodu, využívají se vysoce konzervativní úseky 16S rRNA, v případě požadavku na rozpoznání jednotlivých druhů se využívají druhově specifické geny. Např. pro detekci *C. jejuni* byly použity amplikony genu *HipO* pro hippurikasu⁴⁷ nebo *mapA* pro membránový protein A (cit.⁴⁸). Birkenhead a spol.⁴⁹ vyvinuli techniku PCR založenou na primerech odvozených z genu *flaA* kódující flagelin. Štěpení amplikonů *C. jejuni* pomocí *Alu I* prokázalo značný polymorfismus v délce restričních fragmentů. Metody PCR jsou poměrně citlivé, avšak v závislosti na druhu vzorku se mohou objevit určité problémy. V potravinách v životním prostředí se vyskytují jednotlivé druhy bakterií v malém zastoupení a je proto nezbytné provádět nabohacování vzorku, čímž se ztrácí výhoda přímé detekce patogenu ve vzorku. Vzorky mohou obsahovat inhibitory řetězové polymerázové reakce, což vyžaduje zavedení dodatečných purifikačních postupů⁴⁶. Určitou

nevýhodou je i skutečnost, že řada laboratoří vyvinula vlastní specifické postupy, které však znesnadňují přenositelnost výsledků mezi laboratořemi.

6. Metody identifikace a charakterizace kampylobakterií

6.1. Fenotypové testy

Identifikace a diferenciací kampylobakterií je poměrně obtížná vzhledem k tomu, že jsou tyto bakterie náročné na růstové podmínky a nefermentují sacharidy. Většina identifikačních a rozlišujících fenotypových testů je založena na vyhodnocení morfologických znaků, nutričních požadavcích, rezistenci mikroorganismu k různým druhům agens včetně antibiotik, teplotní toleranci a na poměrně malém počtu biochemických (enzymových) testů^{50,51}. Např. *C. jejuni*, *C. coli* a *C. lari* jsou oxidasa a katalasa pozitivní, redukují dusičnany na dusitany, rostou za mikroaerofilních podmínek při teplotě 42 °C, avšak nikoli při 25 °C. Druh *C. lari* je rezistentní k nalidixové kyselině, *C. jejuni* a *C. coli* jsou na přítomnost tohoto antibiotika citlivé. Hydrolyza hippurátu je standardní test pro rozlišení *C. jejuni* od *C. coli* a *C. lari*^{52,53}. Diferenciací *C. jejuni* subsp. *jejuni* a *C. jejuni* subsp. *doylei* je založena na schopnosti prvně jmenovaného poddruhu redukovat dusičnany a seleničitany. Odlišit *C. fetus* od běžně se vyskytujícího druhu *C. sputorum* ve veterinárních vzorcích je možné pomocí rychlého testu na důkaz produkce H₂S. Diferenciací *C. fetus* subsp. *fetus* a *C. fetus* subsp. *veneralis* se provádí na základě schopnosti mikroorganismu tolerovat přítomnost 1% glycerolu v růstovém médiu. Další doplňkovou a jednoduchou metodou, jak rozpoznat oba poddruhy, je stanovení jejich sérotypu. *C. fetus* subsp. *fetus* tvoří 2 sérotypy (A nebo B), zatímco *C. fetus* subsp. *veneralis* tvoří jediný sérotyp A (cit.⁵⁴). Přestože biochemické testy poskytují rychlé údaje pro předběžnou identifikaci i subtypizaci kampylobakterií, je třeba získané výsledky obezřetně vyhodnotit vzhledem k určité variabilitě v interpretaci a reprodukovatelnosti jednotlivých testů. Tyto rozdíly mohou být způsobeny velikostí inokula, typem kultivačního média, způsobem provedení biochemických testů, tj. použitými reakčními podmínkami popř. stářím kultury^{55–57}. Další problém představují mutatiní kmeny daného druhu, jako je např. hippurát negativní *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni*⁵⁸.

Problémy spojené s nejednoznačnými výsledky při vyhodnocování fenotypových charakteristik kampylobakterií vedly některé pracovníky k vývoji standardizovaných postupů, které by umožnily objektivní vyhodnocení získaných dat. Bolton a spol.⁵⁹ navrhl dvanáct fenotypových testů, jejichž výsledky umožní uživateli vypočítat numerický kód. Ten pak usnadňuje identifikaci 6 druhů rodu *Campylobacter*. Malý počet rozpoznávaných druhů je největším omezením využitelnosti takto navrženého systému. Byly rovněž vypracovány pravděpodobnostní tabulky pro

identifikaci kampylobakterií. Barrett a spol.⁶⁰ popsal výsledky studia 205 kmenů kampylobakterií pomocí 24 fenotypových testů. Kombinace standardizovaných fenotypových testů v podobě miniaturizovaných komerčně dostupných souprav a pravděpodobnostních tabulek pro přesnou identifikaci kampylobakterií pak představuje možnost, jak usnadnit charakterizaci těchto mikroorganismů, omezit možnost chybné identifikace a jak zabezpečit přenositelnost výsledků mezi laboratořemi. Pravděpodobnostní tabulky je možné snadno revidovat v případě taxonomických změn, v okamžiku, kdy jsou pro nový taxon k dispozici porovnatelné údaje.

V současné době platná norma ČSN ISO 10272-1 *Mikrobiologie potravin a krmiv – horizontální metoda průkazu a stanovení počtu Campylobacter spp.* požaduje pro identifikaci a další charakterizaci kampylobakterií následující fenotypové a biochemické testy: vyhodnocení morfologie mikroorganismu, pohyblivost, růst při teplotě 25 °C za mikroaerofilních podmínek, růst při teplotě 41,5 °C za aerofilních podmínek, průkaz cytochromoxidasy a katalasy, citlivost mikroorganismu k cefalotinu a kyselině nalidixové, schopnost hydrolyzovat hippurát a indoxylacetát. Růstové podmínky a definovaný soubor identifikačních testů umožňují rozlišit čtyři klinicky nejvýznamější druhy termofilních kampylobakterií (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* a *C. upsaliensis*).

6.2. Serologické testy

Serotypizace je jedna z běžných metod detailní fenotypové charakterizace bakterií. Pro kmeny *C. jejuni* a *C. coli* bylo navrženo několik serotypizačních schémat. Penner a Hennessy⁶¹ vyvinuli pasivní hemaglutinaci založenou na interakci rozpustných, tepelně stabilních antigenů, imobilizovaných na povrch erythrocytů se specifickými antiséry. V současnosti je pomocí této metody popsáno 66 sérotypů. Hlavní antigenní komponentou jsou lipopolysacharidy, avšak některé studie naznačují, že se imunochemické reakce účastní také kapsulární polysacharidy^{62,63}. Penerova metoda serotypizace má dva nedostatky: 1) detekčním systémem je pasivní hemaglutinace, přičemž reprodukovatelnost výsledků může být ovlivněna variabilní kvalitou jednotlivých šarží erythrocytů⁶⁴, 2) v metodě se používají heterologními kmeny nesyčená antiséra, takže značný počet izolátů aglutinuje s více jak jedním antisérem⁶⁵. Frost a spol.⁶⁶ modifikovali Pennerovo serotypizační schéma *C. jejuni* a *C. coli* použitím syčených antiser proti tepelně stabilnímu antigenu a využitím přímé aglutinace bakteriálních buněk jako detekčního systému. Oba uvedené systémy jsou, vzhledem k různému způsobu přípravy protilátek a metodologii, srovnatelné pouze částečně.

Lior a spol.⁶⁷ navrhli serotypizační metodu založenou na protilátkách proti tepelně labilnímu antigenu a na přímé sklíčkové agglutinaci. Vakcinace králíků byla prováděna bakteriálními buňkami ošetřenými 0,5% formaldehydem. Nežádoucí křížové interakce protilátek byly potlačeny syčením antisér příslušnými heterologními kmeny. Kahlich a spol.⁶⁸ připravili specifická antiséra vakcinací králí-

ků živými kulturami *Campylobacter jejuni*. Jako detekční systém byla použita přímá sklíčková aglutinace. Titr antisér se pro homologní kmeny *C. jejuni* pohyboval v rozmezí 1:128 až 1:2048. Heterologní kmeny většinou v přítomnosti séra neaglutinovaly, pokud byly křížové interakce pozorovány, tak pouze při velmi nízkých titrech 1:4. Křížové reakce tak bylo možné potlačit ředěním séra v poměru 1:8 a více. Autoři definovali 25 sérotypů *C. jejuni* a vyslovili předpoklad, že aglutinačním agens je flagelin⁶⁹. Určitým nedostatkem serotypizace podle Kahliche je skutečnost, že metoda nedoznala většího rozšíření, a že nebyly uveřejněny konverzní tabulky s již dříve zavedenými technikami.

6.3. Molekulárně biologické metody

Byla popsána řada molekulárně biologických technik pro identifikaci a další charakterizaci kampylobakterií. Většina těchto metod je založena na technice polymerázové řetězové reakce (PCR). Tyto metody byly obvykle vyvinuty pro přímou detekci mikroorganismu s různou úrovní rozlišení. Harmon a spol.⁷⁰ vyvinuli multiplexovou metodu PCR (MPCR) pro simultánní detekci *C. jejuni* a *C. coli*. Byly aplikovány primery cílového genu *flaA* kódující flagelin a primery C1 a C4 proti bližší nespecifikovanému genu použité k identifikaci *C. jejuni*. Amplifikace DNA *C. jejuni* poskytovala 2 amplikony o velikosti 160bp a 460 bp, zatímco amplifikace DNA *C. coli* poskytla amplikon o velikosti 460 bp. Person a Olsenová⁷¹ vyvinuli MPCR pro rutinní detekci *C. coli* a *C. jejuni*. Cílovým genem použitých primerů byl gen *hipO* kódující hippuricasy (*C. jejuni*) a sekvence částečně pokrývající gen *asp* kódující aspartokinasy (*C. coli*). Citlivost metody byla závislá na způsobu přípravy testovaného materiálu (klinické vzorky) a na způsobu extrakce templátové DNA. Detekční limit se tak pohyboval v rozmezí 10^2 – 10^5 buněk ml⁻¹ vzorku. Jiná skupina vyvinula PCR pro souběžnou identifikaci *C. jejuni* a *C. coli*, s využitím primerů komplementárních k cílovému genu *ceuE* (*C. coli*) a genu kódujícímu oxidoreduktasu (*C. jejuni*)⁷². Yamazaki-Matsume⁷³ popsali MPCR pro identifikaci *C. coli*, *C. fetus*, *C. hyointestinalis* subsp. *hyointestinalis*, *C. jejuni*, *C. lari* a *C. upsaliensis*. Autoři použili kombinaci 6 druhově specifických primerů. Cílovými geny byly gen pro 23S rRNA (*C. hyointestinalis*), *ask* (*C. coli*), *cstA* (*C. fetus*), *glyA* (*C. lari*), *cj414* (*C. coli*) a *lpxA* (*C. upsaliensis*). Amplikony získané pro jednotlivé druhy byly jednoznačně rozlišitelné podle své velikosti po elektroforetické separaci na agarosovém gelu. Účinnost metody byla ověřena na 142 kmenech kampylobakterií různého původu. Rovněž byla popsána real-time PCR pro přímou kvantifikaci *C. jejuni* a *C. lanienae* ve veterinárních vzorcích. Pro *C. jejuni* byl použit primer komplementární s genem *mapA*, pro *C. lanienae* byly testovány 3 primery komplementární k 16S rRNA. Detekční limit amplifikace *C. jejuni* byl $3 \cdot 10^3$ cfu g⁻¹, detekční limit amplifikace *C. lanienae* dosáhl hodnoty 250 cfu g⁻¹ (cit.⁷⁴). Dionisi a spol.⁷⁵ použili real-time PCR k identifikaci ciprofloxacin rezistentních

kmenů *C. jejuni*. Autoři použili primery komplementární s úsekem cílového genu *gyrA*, protože substituce C→T na 86 kodonu tohoto genu je spojována s rezistencí k ciprofloxacinu. Hong a spol.⁷⁶ vyvinuli PCR-ELISA pro rychlou detekci *C. coli*, *C. jejuni* a *Salmonella enterica* v kuřatech. V této metodě jsou do amplikonu začleněny značené nukleotidy a výsledný PCR produkt je detegován použitím komplexu enzym-protilátka, která rozpoznává použitou unikátní značku. Detekční limit metody pro průkaz přítomnosti salmonel byl $2 \cdot 10^2$ cfu ml⁻¹, detekční limit pro průkaz přítomnosti kampylobakterií činil $4 \cdot 10^1$ cfu ml⁻¹.

Studer a spol.⁷⁷ testovali vzorky z životního prostředí z kuřecích farem na přítomnost kampylobakterií. Vzorky byly analyzovány jak kultivační metodou, tak pomocí PCR. Všechny produkty PCR byly dále typovány na základě analýzy délkového polymorfismu restričního fragmentu (RFLP), s využitím restriční endonukleasy *DraI*. Byly nalezeny 3 RFLP profily a jejich vzájemné kombinace. Vacherová a spol.⁷⁸ vyvinuli kombinovanou techniku založenou na PCR a RFLP pro detekci bodových mutací odpovídajících za rezistenci kampylobakterií k makrolidům.

Pro subtypizaci kampylobakterií byly použity i další metody, jako je makrorestriční profilování pomocí pulsní elektroforézy (PFGE)^{79–82}, *flaA* typizace⁸⁰, náhodná amplifikace polymorfni DNA (RAPD)^{83,84} a ribotypizace^{81,85}. Sekvenování genomu *C. jejuni* usnadňuje zavádění technologie mikročipů, která je založena na umístění vysokého počtu specifických sond DNA na velmi malé ploše, což umožňuje testovat velký počet vzorků s minimální spotřebou výchozího materiálu a reagensií^{86,87}.

6.4. Ostatní metody

Byla popsána řada specifických bakteriofágů a jejich využití pro detailní charakterizaci kmenů *C. jejuni* a *C. coli*^{88–90}. Kombinace metod serotypizace a fagotypizace byla použita ve Velké Británii při charakterizaci 2407 kmenů *C. jejuni* a 182 kmenů *C. coli*⁹¹. Wareing a spol.⁹² použili serotypizaci podle Pennera, fagotypizaci za použití 16 lytických bakteriofágů a biotypizaci ke studiu fenotypové diversity 831 kmenů kampylobakterií získaných ze sporadických infekcí v různých geografických oblastech Velké Británie. Izoláty *C. jejuni* byly rozděleny do 40 fagotypových skupin, přičemž 16 skupin se vyskytovalo s frekvencí větší než 1 %. Celkem 17,9 % izolátů nebylo typovatelných. Nejfrekventovanější fagotypy (PG52, PG121 a PG55) byly přiřazeny k nejčastěji se vyskytujícím sérotypům O:1, O:2 a O:4.

Méně běžnými metodami identifikace a charakterizace kampylobakterií je analýza profilů buněčných mastných kyselin^{93–96}, studium proteinových profilů lysovaných buněk^{97,98}, popř. měření molekulové hmotnosti druhově specifických proteinových biomarkerů hmotnostní spektrometrií MALDI-TOF^{99,100}.

Tato práce byla podpořena z prostředků Výzkumných záměrů MŠMT MSM 6046137305.

LITERATURA

1. Bryan F. L., Doyle M. P.: *J. Food Protect.* 58, 326 (1995).
2. Jimenéz A., Velázquez J. B., Rodríguez J., Chomón B., Villa T. G.: *J. Infect.* 29, 305 (1994).
3. Anonym: EFSA J. 130, 353 (2007).
4. Sebald M., Véron M.: *Ann. Inst. Pasteur (Paris)* 105, 897 (1963).
5. Véron M., Chatelain R.: *Int. J. Syst. Bacteriol.* 23, 122 (1973).
6. Vandamme P., De Ley J.: *Int. J. Syst. Bacteriol.* 41, 451 (1991).
7. Amano K., Shibata Y.: *Microbiol. Immunol.* 36, 961 (1992).
8. Karmali M. A., Fleming P. C.: *J. Pediatr.* 94, 527 (1979).
9. Chan Skirrow M. B., Blaser M. J.: v knize: *Campylobacter* (Nachamkin I., Blaser M. J., ed.), 2. vyd., str. 69. ASM Press, Washington DC 2000.
10. Pacha R. E., Clark G. W., Williams E. A., Carter A. M.: *Can. J. Microbiol.* 34, 80 (1988).
11. Atabay H. I., Corry J. E. L.: *J. Appl. Microbiol.* 83, 619 (1997).
12. Atabay H. I., Corry J. E. L.: *J. Appl. Microbiol.* 84, 733 (1998).
13. Aydin F., Atabay H. I., Akan M.: *J. Appl. Microbiol.* 90, 637 (2001).
14. Jacobs-Reitsma W., v knize: *Campylobacter* (Nachamkin I., Blaser M. J., ed.), 2. vyd., str. 467. ASM Press, Washington DC 2000.
15. Logue C. M., Sherwood J. S., Elijah L. M., Olah P. A., Dockter M. R.: *J. Appl. Microbiol.* 95, 234 (2003).
16. Nesbakken T., Eckner K., Høidal H. K., Røtterud O.-J.: *Int. J. Food Microbiol.* 80, 231 (2003).
17. De Boer E., Hahne M.: *J. Food Protect.* 53, 1067 (1990).
18. Svedhem A., Norkrans G.: *Lancet* 1, 713 (1980).
19. Blaser M. J., Waldman R. J., Barrett T., Erlandson A. L.: *J. Pediatr.* 98, 254 (1981).
20. Dekeyser P., Gossuins-Detrain M., Butzler J. P., Sternon J.: *J. Infect. Dis.* 125, 390 (1972).
21. Steele T. W., McDermott S. N.: *Pathology* 16, 263 (1984).
22. Gebhart C. J., Ward G. E., Chang K., Kurtz H. J.: *Am. J. Vet. Res.* 44, 361 (1983).
23. Goosens H., Vlaes L., Galand I., Van den Borre C., Butzler J.-P.: *J. Clin. Microbiol.* 27, 1077 (1989).
24. Skirrow M. B.: *Brit. Med. J.* 2, 9 (1977).
25. Bolton F. J., Robertson L.: *J. Clin. Pathol.* 35, 462 (1982).
26. Bolton F. J., Hutchinson D. N., Coates D.: *J. Clin. Microbiol.* 19, 169 (1984).
27. Karmali M. A., Simor A. E., Roscoe M., Fleming P. C., Smith S. S., Lane J.: *J. Clin. Microbiol.* 23, 456 (1986).
28. Griffith B. M., Park R. W. A.: *J. Appl. Bacteriol.* 69, 281 (1990).

29. Aspinall S. T., Wareing D. R. A., Hayward P. G., Hutchinson D. N.: *J. Clin. Pathol.* 46, 829 (1993).
30. Tran T. T.: *Lett. Appl. Microbiol.* 26, 145 (1998).
31. Hodinka R. L., Gilligan P. H.: *J. Clin. Microbiol.* 26, 47 (1988).
32. Nachamkin I., Barbagallo S.: *J. Clin. Microbiol.* 28, 817 (1990).
33. Sutcliffe E. M., Jones D. M., Pearson A. D.: *Lett. Appl. Microbiol.* 12, 72 (1991).
34. Hazeleger W. C., Beumer R. R., Rombouts F. M.: *Lett. Appl. Microbiol.* 14, 181 (1992).
35. Taylor D. E., Chang N.: *Mol. Cell. Probes* 1, 261 (1987).
36. Lu P., Brooks B. W., Robertson R. H., Nielsen K. H., Garcia M. M.: *Int. J. Food Microbiol.* 37, 87 (1997).
37. Brooks B. W., Robertson R. H., Lutze-Wallace C. L., Pfahler W.: *Vet. Microbiol.* 87, 37 (2002).
38. Hochel I., Viochna D., Škvor J., Musil M.: *Folia Microbiol.* 49, 579 (2004).
39. Hochel I., Slavičková D., Viochna D., Škvor J., Steinhauserová I.: *Food Agric. Immunol.* 18, 151 (2007).
40. Horák D., Hochel I.: e-Polymers no. 061, (2005). <http://www.e-polymers.org>
41. Hoorfar J., Nielsen E. M., Stryhn H., Andersen S.: *J. Microbiol. Methods* 38, 101 (1999).
42. Bailey J. S., Fedorka-Cray P., Richardson L. J., Cox N. A., Cox J. M.: *J. Rapid Meth. Autom. Microbiol.* 16, 374 (2008).
43. Dediste A., Vandenberg O., Vlaes L., Ebraert A., Douat N., Bahwere P., Butzler J.-P.: *Clin. Microbiol. Infect.* 9, 1085 (2003).
44. Wei D., Oyarzabal O. A., Huang T.-S., Balasubramanian S., Sista S., Simonian A. L.: *J. Microbiol. Methods* 69, 78 (2007).
45. Yu L. S. L., Uknalis J., Tu S.-I.: *J. Immunol. Methods* 1-2, 11 (2001).
46. Docherty L., Adams M. R., Patel P., McFadden J.: *Lett. Appl. Microbiol.* 22, 288 (1996).
47. Bang D. D., Wedderkopp A., Pedersen K., Madsen M.: *Mol. Cell. Probes* 16, 359 (2002).
48. Inglis G. D., Kalischuk L. D.: *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 3435 (2003).
49. Birkenhead D., Hawkey P. M., Heritage J., Gascoyne-Binzi D. M., Kite P.: *Lett. Appl. Microbiol.* 17, 235 (1993).
50. Lior H.: *J. Clin. Microbiol.* 20, 636 (1984).
51. Vandamme P., Dewhirst F. E., Paster B. J., On S. L. W., v knize: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Garrity G. M., Brenner D. J., Krieg N. R., Staley J. T., ed.), 2. vyd., Vol. 2, The Proteobacteria, Part C The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria, str. 1147. Springer, New York 2005.
52. Morris G. K., El Sheerbeny M. R., Patton C. M., Kodaka H., Lombard G. L., Edmonds P., Hollis D. G., Brenner D. J.: *J. Clin. Microbiol.* 22, 714 (1985).
53. Skirrow M. B., Benjamin J.: *J. Clin. Pathol.* 33, 1122 (1980).
54. Perez-Perez G. I., Blaser M. J., Bryner J. H.: *Infect. Immun.* 51, 209 (1986).
55. On S. L. W., Holmes B.: *J. Clin. Microbiol.* 29, 923 (1991).
56. On S. L. W., Holmes B.: *J. Clin. Microbiol.* 29, 1785 (1991).
57. On S. L. W., Holmes B.: *J. Clin. Microbiol.* 30, 746 (1992).
58. Totten P. A., Patton C. M., Tenover F. C., Barrett T. J., Stamm W. E., Steigerwalt A. G., Lin J. Y., Holmes K. K., Brenner D. J.: *J. Clin. Microbiol.* 25, 1747 (1987).
59. Bolton F. J., Holt A. V., Hutchinson D. N.: *J. Clin. Pathol.* 37, 677 (1984).
60. Barrett T. J., Patton C. M., Morris G. K.: *Lab. Med.* 19, 96 (1988).
61. Penner J. L., Hennessy J. N.: *J. Clin. Microbiol.* 12, 732 (1980).
62. Karlyshev A. V., Linton D., Gregson N. A., Lastovica A., Wren B. W.: *Mol. Microbiol.* 35, 529. (2000).
63. Chart H., Frost J. A., Oza A. N., Thwaites R. T., Gillanders S. A., Rowe B.: *J. Appl. Bacteriol.* 81, 635 (1996).
64. Fricker C. R., Alemohammed M. M., Park R. W. A.: *Can. J. Microbiol.* 33, 33 (1987).
65. Jones D. M., Sutcliffe E. M., Abbott J. D.: *Eur. J. Clin. Microbiol.* 4, 562 (1985).
66. Frost J. A., Oza A. N., Thwaites R. T., Rowe B.: *J. Clin. Microbiol.* 36, 335 (1998).
67. Lior H., Woodward D. L., Edgar J. A., Gill P.: *J. Clin. Microbiol.* 15, 761 (1982).
68. Kahlich R., Aldová E., Paleček A., Šourek J.: *Syst. Appl. Microbiol.* 6, 82 (1985).
69. Kahlich R., Aldová E., Kušiak I., Hausner O., Roch P., Potužník V., Radovnický V.: *Syst. Appl. Microbiol.* 12, 306 (1989).
70. Harmon K. M., Ransom G. M., Wesley I. V.: *Mol. Cell. Probes* 11, 195 (1997).
71. Persson S., Olsen K. E. P.: *J. Med. Microbiol.* 54, 1043 (2005).
72. Nayak R., Stewart T., Nawaz M. S.: *Mol. Cell. Probes* 19, 197 (2005).
73. Yamazaki-Matsune, Taguchi M., Seto K., Kawahara R., Kawatsu K., Kumeda Y., Kitazato M., Nukina M., Misawa N., Tsukamoto T.: *J. Med. Microbiol.* 56, 1467 (2007).
74. Inglis G. D., Kalischuk L. D.: *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 2296 (2004).
75. Dionisi A. M., Luzzi I., Carattoli A.: *Mol. Cell. Probes* 18, 255 (2004).
76. Hong Y., Berrang M. E., Liu T., Hofacre C. L., Sanchez S., Wang L., Maurer J. J.: *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 3492 (2003).
77. Studer E., Lüthy J., Hübner P.: *Res. Microbiol.* 150, 213 (1995).
78. Vacher S., Ménard A., Bernard E., Mégraud F.: *Antimicrob. Agents Chemother.* 47, 1125 (2003).
79. Broman T., Waldenstöm J., Dahlgren D., Carlsson I.,

- Eliasson I., Olsen B.: *J. Appl. Microbiol.* 96, 834 (2004).
80. Lorenz E., Lastovica A., Owen R. J.: *Lett. Appl. Microbiol.* 26, 179 (1998).
81. Gibson J. R., Fitzgerald C., Owen R. J.: *Epidemiol. Infect.* 115, 215 (1995).
82. Salama S. M., Tabor H., Richter M., Taylor D. E.: *J. Clin. Microbiol.* 30, 1982 (1992).
83. Hernandez J., Fayos A., Ferrus M. A., Owen R. J.: *Res. Microbiol.* 146, 685 (1995).
84. Madden R. H., Moran L., Scates P.: *Lett. Appl. Microbiol.* 23, 167 (1996).
85. Fayos A., Owen R. J., Desai M., Hernandez J.: *FEMS Microbiol. Lett.* 95, 87 (1992).
86. Keramas G., Bang D. D., Lund M., Madsen M., Rasmussen S. E., Bunkenborg H., Telleman P., Christensen C. B. V.: *Mol. Cell. Probes* 17, 187 (2003).
87. Keramas G., Bang D. D., Lund M., Madsen M., Bunkenborg H., Telleman P., Christensen C. B. V.: *J. Clin. Microbiol.* 42, 3985 (2004).
88. Grajewski B. A., Kusek J. W., Gelfand H. M.: *J. Clin. Microbiol.* 22, 13 (1985).
89. Salama S. M., Bolton F. J., Hutchinson D. N.: *Epidemiol. Infect.* 104, 405 (1990).
90. Khakira R., Lior H.: *Epidemiol. Infect.* 108, 403 (1992).
91. Frost J. A., Kramer J. M., Gillanders S. A.: *Epidemiol. Infect.* 123, 47 (1999).
92. Wareing D. R. A., Bolton F. J., Fox A. J., Wright P. A., Greenway D. L. A.: *J. Appl. Microbiol.* 92, 502 (2002).
93. Curtis M. A.: *Med. Lab. Sci.* 40, 333 (1983).
94. Lambert M. A., Patton C. M., Barrett T. J., Moss C. W.: *J. Clin. Microbiol.* 25, 706 (1987).
95. Coloe P. J., Slattery J. F., Cavanaugh P., Vaughan J.: *J. Hyg.* 96, 225 (1986).
96. Goodwin C. S., McConnell W., McCulloh R. K., McCullough C., Hill R., Bronsdon M. A., Kasper G.: *J. Clin. Microbiol.* 27, 938 (1989).
97. Vandamme P., Dewettinck D., Kersters K.: *Syst. Appl. Microbiol.* 15, 402 (1992).
98. Diker K. S., Esendal O. M., Akan M.: *J. Vet. Med., Ser. B* 47, 739 (2000).
99. Winkler M. A., Uher J., Cepa S.: *Anal. Chem.* 16, 3416 (1999).
100. Mandrell Robert E., Harden Leslie A., Bates Anna, Miller William G., Haddon William F., Fagerquist Clifton K.: *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 6292 (2005).

I. Hochel (*Department of Biochemistry and Microbiology, Institute of Chemical Technology, Prague, Czech Republic*): **Methods of Detection and Characterization of *Campylobacter* sp.**

Campylobacters are ubiquitous microorganisms responsible for infections in humans and animals. The enteritis caused by these bacteria is characterized by diarrhoea, fever and abdominal pain. Although it is usually a self-limiting disease that does not require antimicrobial therapy, the infection can lead, though rarely, to serious sequelae such as reactive arthritis and the Guillain-Barré syndrome. The pathogens are frequently found in the environment and in many foods of both animal and plant origin. This review is focused on recent methods used for isolation, identification and characterization of clinically important *Campylobacter* species.

Chemické listy

Vážení autoři,

vzhledem ke zvyšujícím se nákladům a v souvislosti se snahou udržet dosavadní kvalitu časopisu se vedení Chemických listů a České společnosti chemické rozhodlo upravit částku za poděkování grantovým agenturám v uveřejněných člancích na 1500 Kč za každý uvedený grant. Opatření platí od 1. 1. 2010. Věříme, že toto opatření přijmete s pochopením.

redakce časopisu

FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÉ ASPEKTY UMĚLÉHO VYVOLÁNÍ DEŠTĚ

PAVEL CHUCHVALEC a ONDŘEJ SVOBODA

Ústav fyzikální chemie, VŠCHT Praha, Technická 5,
166 28 Praha 6
pavel.chuchvalec@vscht.cz

Došlo 4.3.09, přijato 6.8.09.

Klíčová slova: umělý déšť, modifikace počasí

Obsah

1. Úvod
2. Nemračme se na mraky – přírodní podmínky pro vznik deště
3. Co by bylo, kdyby existoval ideální mrak
4. Mechanismus vzniku deště
5. „Obchodníci s deštěm“ aneb postupy používané k vyvolání umělého deště
6. Závěr

1. Úvod

Vyvolat déšť umělým zásahem je jedním z dávných lidských snů týkajících se touhy člověka ovládnout počasí. Zejména v oblastech s extrémně nevyrovnaným zásobováním vodou je představa o možné regulaci vodních srážek stále velmi živá. Zpráva ze začátku letošního roku oznamuje, že v Číně jsou kriticky ohroženy suchem tradiční oblasti pěstování obilí. Smrt žízni hrozí milionům kusů dobytka a pitná voda dochází i 4 milionům lidí. Aby se zajistily nouzové zásoby vody, počítá čínská vláda i s pokusy vyvolat umělý déšť¹. Na opačném pólu problematiky stojí přání zabránit katastrofě vyvolané intenzivními lokálními průtržemi mračen, a proto např. Evropská unie financovala projekt ANTISTORM, který zkoumal vývoj srážek spolu s případným vlivem lidské činnosti na jejich intenzitu a lokalitu². Jaká je vlastně současná situace s možnostmi vyvolat místní déšť nebo naopak zabránit jeho vzniku?

2. Nemračme se na mraky – přírodní podmínky pro vznik deště

Jak známo, prší z mraků. Jsou-li k dispozici vhodné mraky, stává se úkol vyvolat umělý déšť hypoteticky snadnější než případ, kdy je nutno primárně uvažovat i o regulované tvorbě mraků³. Na Zemi se mraky skládají hlavně z vody v jejím kapalném nebo pevném skupenství^{4,5}. Kromě obsahu vody v atmosféře je další nutnou podmínkou vzniku mraků přítomnost prachových částic. Bez pracho-

vých částic ve vzduchu by neexistovaly ani mraky, jak je známe. Vzduch všude na Zemi prachové částice obsahuje. V oceánském ovzduší jsou v kubickém centimetru obsaženy řádově stovky drobných částic, u antropogenního znečištění v průmyslových oblastech to pak bývají i miliony⁶. Pro vznik deště je další důležitou okolností skutečnost, že existují nejen horizontální, ale i vertikální vzdušné proudy. Stoupající vzduch je podmínkou vzniku mraků.

Mraky vznikají poté, co parciální tlak vodní páry ve vzduchu dosáhne tlaku nasycené páry vody odpovídající dané teplotě – pokud je ve vzduchu dostatečný počet kondenzačních jader, vodní pára kondenzuje (v opačném případě dojde ke kondenzaci až za vysokého přesycení). Nezanedbatelným klimatickým faktorem pak je teplo uvolněné při kondenzaci, které může být např. příčinou vzniku tropických cyklonů a podobných mohutných bouří. Vzduch lze nasýtit vodní parou při stávajícím obsahu vody jeho ochlazením. K ochlazení vzduchu dochází při jeho vzestupu do vyšších vrstev atmosféry. K tomuto jevu může dojít několika způsoby. Tím prvním je kontakt chladných a teplých vzdušných proudů. Jiný mechanismus je způsoben členitostí krajiny – horizontální vzdušné proudy se dostanou do kontaktu s horami a vzduch je nucen stoupat. I tento proces následně vyústí ve vznik mraků. Když vzduch stoupá, dochází k jeho adiabatické expanzi. Při tom se ochladí přibližně o 10 °C na každých tisíc metrů. Zdaleka ne každý typ mraku však představuje potenciál pro vznik deště. Mraky jsou tvořeny vodní parou a kapičkami vody nebo ledovými krystalky, případně obojím. Díky malé velikosti posledně zmíněných částic, relativně vysokému odporu vzduchu a stoupajícím vzdušným proudům zůstávají částice prakticky ve vlnosku. Odhaduje se, že průměrná mraková částice má v klidném prostředí rychlost klesání okolo 1,3 cm za vteřinu. Typické částice mraku (agregáty molekul vody na kondenzačním jádře) mají průměr od 0,012 do 0,1 milimetru⁷.

V praxi se používají zpravidla dvě klasifikace mraků⁸. Tou první je tzv. Howardova morfologická stupnice, druhou je rozdělení pouze na základě nadmořské výšky. Podle Howarda se mraky v zásadě dělí do tří hlavních kategorií: Cirrus, Cumulus a Stratus. Cirrus je vysoký, lehký, bílý vláknitý oblak tvořený ledovými krystalky. Leží přibližně v nadmořské výšce 6 kilometrů nad zemským povrchem. Cumulus je bílý až šedý, hustý kupovitý oblak s rovnou horizontální základnou a zaoblenými okraji. Leží níže než Cirrus, nicméně jeho horní část bývá i v létě též tvořena krystalky ledu. Stratus představuje stejnoměrnou vrstvu oblaků podobných mlze, ze kterých mrholí. Zpravidla se pozorovateli jeví, že Stratus pokrývá celou oblohu. Pozorujeme ho hlavně na podzim a vyskytuje se poměrně blízko povrchu – nenalezneme ho výše než ve 3 km a často je dokonce v kontaktu se zemí. Kromě těchto tří základních typů mraků existuje ještě další dělení

na několik hraničních typů. Druhá klasifikace spočívá v rozlišení podle nadmořské výšky základny mraku. V zásadě tak rozlišujeme mraky, které jsou výše než šest kilometrů nad zemským povrchem, v oblasti dva až šest kilometrů a níže než dva kilometry. Podle nadmořské výšky můžeme například usuzovat, ze kterých částic bude mrak převážně tvořen (kapky vody či krystalky ledu). Tato informace je potenciálně důležitá pro případný mechanismus umělého vyvolání srážek.

3. Co by bylo, kdyby existoval ideální mrak

Klasická termodynamika popisuje závislost tlaku nasycených par na teplotě pro případ rovnováhy kapalina–pára (při zanedbání molárního objemu kapalné fáze vzhledem k molárnímu objemu parní fáze a aproximaci chování parní fáze stavovou rovnicí ideálního plynu) Clausiovou–Clapeyronovou rovnicí:

$$\frac{d \ln p^s}{dT} = \frac{\Delta_{\text{vyp}} H_m}{RT^2} \quad (1)$$

kde p^s je tlak nasycených par, T absolutní teplota, $\Delta_{\text{vyp}} H_m$ představuje molární výparnou entalpii kapaliny a R je univerzální plynová konstanta.

Uvedený popis podmínek koexistence kapaliny a páry je vhodný pro „makroskopickou“ kapalinu (rezervoár kapaliny, která je v rovnováze s vlastní parou). Při charakterizaci chování systémů s částicemi kapaliny (kapičkami), které mají rozměry řádově v mikro- či nanometrech, je nutno vzít v úvahu rostoucí procento molekul na fázových rozhraních a odlišnosti v jejich chování podle toho, jestli se nacházejí v objemu fáze nebo na fázovém rozhraní. Snadno lze dokázat, že na zakřiveném rozhraní není rovnost vnějšího tlaku a tlaku uvnitř kapiček podmínkou fázové rovnováhy. Vztah mezi tlakem nasycených par nad rovným a zakřiveným kapalným rozhraním (kapičky) popisuje Kelvinova rovnice:

$$RT \ln \frac{p_r^s}{p_\infty^s} = \frac{2\gamma V_m^{(l)}}{r} \quad (2)$$

kde p_r^s je tlak nasycených par nad kapalinou se zakřiveným rozhraním o poloměru r a p_∞^s představuje tlak nasycených par nad kapalinou s rovným rozhraním. Parametr γ je povrchové napětí kapaliny a $V_m^{(l)}$ její molární objem.

Ze vztahu (2) je zřejmé, že při zmenšování poloměru kapičky se zvětšuje rozdíl ($p_r^s - p_\infty^s$). Tento jev je základní příčinou nízké stability systémů s malými částicemi kapaliny. Malé kapky vody se díky vyššímu tlaku nasycených par vypařují, ale vznikající pára je „přesycená“ vzhledem ke kapalině v kapkách (příp. na částicích) s nižším poloměrem zakřivení a má tendenci na nich kondenzovat. Výsledkem je zmenšení plochy fázových rozhraní, mezifázové energie a tím i celkové energie systému. Vrátime-li se nyní zpět k mrakům – za dostatečně nízké teploty v určité nadmořské výšce začne vodní pára kondenzovat a důsledkem je tvorba prvních malých kapiček. Tyto kapičky jsou

však tak malé, že v důsledku jejich vysokého tlaku nasycených par nedojde k jejich dalšímu růstu, ale naopak k vypařování. Přesycená vodní pára zůstává součástí mraku a ten je ve stavu jakési dynamické rovnováhy.

4. Mechanismus vzniku deště

Teoreticky jsou možné dva mechanismy vzniku velkých kapek a tudíž deště. První možností je náhodné nakupení velkého počtu molekul vody na jednom místě a rychlý vznik kapičky, na jejímž povrchu pak mohou kondenzovat další molekuly. Zároveň dochází ke koalescenci kapiček. Koalescenci můžeme chápat jako proces, při němž se dvě nebo více kapiček spojuje v celek o větším objemu, ale menším celkovém povrchu a tedy menší povrchové energii (při splnutí dvou stejných kapek se zmenší plocha povrchu o 41%). Tento děj se může uplatnit v teplých mracích – zejména přímořských, s velkým obsahem kapalné vody. Druhý mechanismus, který se uplatňuje u chladných mraků, je založen na interakci molekul vody s kondenzačními jádry (CCN – Cloud Condensation Nuclei). Kondenzační jádra jsou maličké prachové či jiné částice se značně velkým povrchem. Na povrchu těchto částic dochází ke kondenzaci vodní páry, případně ke vzniku krystalků ledu z podchlazené kapalné vody. Kdyby ve vzduchu nebyla žádná kondenzační jádra, ke vzniku deště by bylo třeba mnohem většího přesycení (čím menší je velikost kapky, tím větší přesycení by bylo třeba). Úloha kondenzačních jader spočívá tedy v tom, že vyvolají kondenzaci už v okamžiku, kdy je vzduch mírně přesycen.

Zdrojem kondenzačních jader jsou aerosoly. Aerosol je běžně definován jako heterogenní směs malých částic (pevných nebo kapalných) v plynu. V případě pevných částic se často mluví o dýmu, kapalně částice v plynu bývají označovány jako mlha. Částice mají velikost od 10^{-8} do 10^{-4} m. Součástí aerosolů vzniklých na základě lidské činnosti jsou hlavně sirany, dusičnany, organické uhlíkaté látky, saze a prach. Od průmyslové revoluce dochází k neustálému zvyšování obsahu aerosolů ve vzduchu následkem industriální činnosti člověka. Aerosoly však ovlivňují klimatický systém nejen jako zdroje kondenzačních jader, ale projevují se i nepřímými efekty, které jsou v posledních desetiletích předmětem intenzivního zkoumání⁹. Ačkoli i samotné imise v bezmračné atmosféře mohou ovlivňovat její absorpční a odrazové vlastnosti vzhledem k dopadajícímu slunečnímu záření, vliv přítomnosti těchto částic v mracích je mnohem významnější. Kapičky či kousky ledu v mracích interagují se zářením mnohem silněji než vlastní nukleační jádra, neboť jsou obvykle o několik řádů větší a významně tak zvyšují optickou tloušťku mraku. Větší množství aerosolů v ovzduší tedy způsobuje zvýšený odraz slunečního záření, zvýšenou absorpci energie mrakem a na Zemi tak dopadá méně sluneční energie. Tento jev je znám jako Twomeyho efekt¹⁰ a ve svém důsledku vede k ochlazení Země, delší životnosti mraku a snížení intenzity srážek (jedná se o proces, který co do účinku na zemské klima působí v opačném směru než skleníkový efekt). Díky satelitním pozorováním lze

v současnosti získat spolehlivou informaci o distribuci aerosolů v ovzduší¹¹. Měřitelnou veličinou je tzv. aerosolová optická hloubka, která je odvozena od množství slunečního záření odraženého do vesmíru. Antropogenní zdroje v současnosti již přispívají k této optické hloubce prakticky stejnou měrou jako přírodní aerosoly¹². Je zajímavé, že v literatuře je vysokým koncentracím aerosolů způsobených lidskou činností přisuzován jak pokles srážkové činnosti (díky Twomeyho efektu), tak nárůst srážek vlivem zvýšeného počtu kondenzačních jader v ovzduší^{13,14}. Tento duální efekt je příčinou jedné z největších neurčitostí ve výzkumu klimatu, neboť je obtížné jednotlivé vlivy kvantifikovat.

5. „Obchodníci s deštěm“ aneb postupy používané k vyvolání umělého deště

Z předchozích statí je patrné, že usilovat o lokální vyvolání deště má smysl pouze v případech, kdy se nad danou oblastí nachází vhodná mračna (zejména typu Cumulus). Cílem pak je zavést do nich látky, které by vyvolaly vznik srážek ve větším měřítku. Rozdílné technologie navržené pro tento účel shrnuje Bruintjes¹⁵. Cílené experimenty orientované na vyvolání srážek lze zaznamenat především v poslední čtvrtině dvacátého století. Jen mezi lety 1974 a 1995 zaznamenala Světová meteorologická organizace 88 probíhajících programů ve 27 zemích.

V počátcích snah o umělé vyvolání deště stojí zřejmě pozorování Schaefera¹⁶ a Vonneguta¹⁷, že přechod podchlazené kapalně vody na led lze efektivně aktivovat pomocí jodidu stříbrného nebo pevného CO₂. Obě tyto látky jsou doposud nejčastěji používané komponenty v experimentech s umělým deštěm v případě chladných mraků. Pro teplejší mraky se používá nukleace podporující koalescenci kapiček vody. Skutečně kardinálním problémem při experimentech s vyvoláním deště je jejich reprodukovatelnost. Je třeba vzít v úvahu geologickou polohu, roční období, meteorologické podmínky, technologii rozptýlení látky vyvolávající nukleaci atd.

Při pokusech o vyvolání deště u chladných mraků se v zásadě uplatnily dva přístupy – statický a dynamický. Statický koncept je založen na myšlence, že v mracích není dostatečné množství kondenzačních jader, a proto jsou do mraků vkládána uměle. Podle Cottona¹⁸ je možné tento postup využít jen pro kontinentální mraky, jejichž teplota na vrcholu je v rozmezí –25 až –10 °C. Lze konstatovat, že experimenty prokázaly, že tato snaha o vyvolání deště mění mikrostrukturu mraků, vede k urychlování tvorby ledových krystalků a zvyšování jejich počtu. Z programů, které se věnovaly ověřování statického konceptu, lze uvést např. HIPLIX¹⁹ nebo izraelské experimenty²⁰. Program HIPLIX se pokoušel o umělou nukleaci relativně jednoduchého mraku typu Cumulus Congestus, jehož fyzika byla dříve probádána, pevným CO₂. Bylo dosaženo rychlého zvýšení počtu sněhových vloček, tyto byly však velmi malé, padaly k zemi pomalu a v důsledku toho se většina z nich znovu vypařila. U izraelských experimentů byl pro nukleaci použit jodid stříbrný. Dávkování

bylo prováděno z letadla letícího na úrovni základny mraků. Množství použitého jodidu stříbrného bylo velmi nízké, vypouštělo se 500 g za hodinu do mraků na rozloze 3775 km² (pro srovnání – v případě dynamického konceptu se používá i 1 kg za hodinu na každý samostatný mrak). Podle výzkumného týmu se v dané oblasti zvýšila srážková činnost o cca 15 % vzhledem k oblasti kontrolní. Později byly výsledky izraelských experimentů zpochybněny a vedla se okolo nich v polovině devadesátých let intenzivní diskuse.

Principem dynamického konceptu je vypustit do konkrétního mraku relativně velké množství chemické látky, která vyvolá rychlé zmrazení mraku. S tím souvisí uvolnění značného množství tepla, které by mělo v ideálních podmínkách vyvolat vzdušné proudy tlačící mrak vzhůru k nižším teplotám – a tím i růst mraku. Rozdíl mezi statickým a dynamickým konceptem je možno ukázat na cílových hodnotách počtu krystalků ledu na litr vzduchu. Zatím co u statického módu je cílová koncentrace 1–10 krystalků na litr vzduchu při teplotě –15 °C, u dynamického konceptu se očekává na tentýž objem vzduchu 100–1000 krystalků. Z programů zaměřených na ověření dynamického konceptu lze uvést např. FACE – 1 (Florida Area Cumulus Experiment)²¹ a jeho pokračování²². Zatím co výsledkem prvního z programů bylo konstatování, že za vhodných meteorologických podmínek lze na základě dynamického konceptu zvýšit srážkovou činnost, následný program FACE – 2, který měl závěry prvního z programů definitivně potvrdit, nevykázal zdaleka tak optimistické výsledky.

U teplých mraků (např. přímořský mrak s vysokou teplotou základny), kde je hlavním mechanismem vzniku deště kombinace kolizí a koalescence, se používá nukleace „hygroskopická“, kdy se do základny mraku vpravují vhodná kondenzační jádra urychlující koalescenci. Tato jádra (nejčastěji soli, např. NaCl) fungují jako umělé kapky, na kterých může koalescence probíhat. Průměr těchto částic bývá obvykle v řádu jednotek mikrometrů. Problémem tohoto přístupu je potřeba velkého množství rozptýlené látky a stanovení optimální velikosti částic. Zajímavé experimenty s nukleací teplých mraků byly provedeny v jižní Africe, kde byly využity zplodiny speciálních pyrotechnických trysek umístěných na křídlech letadel jako kondenzační jádra očukující vhodné bouřkové mraky²³. Podle autorů studie byl srážkový úhrn v případě uměle modifikovaných bouří vždy vyšší než v případě kontrolních bouří neovlivněných nukleací.

6. Závěr

Programům na výzkum modifikace srážkové činnosti se dostávalo největší podpory v poslední čtvrtině minulého století. Jestliže ale v sedmdesátých letech věnovala vláda USA na tento výzkum okolo 19 milionů dolarů za rok, na začátku devadesátých let to bylo již jen 5 milionů a v roce 1997 jen 0,5 milionu. V témže roce se rozhodla i vláda Izraele zastavit podporu podobných programů. Úpadek financí na tento typ výzkumu samozřejmě neznamená jeho

zánik, i v současnosti lze zaznamenat projekty tohoto typu ve více než 22 zemích světa, prostředky jsou ale značně limitované a často ze soukromých zdrojů. Jedním z důvodů zastavení významnějšího přílivu financí do této výzkumné oblasti byl prvotní přílišný optimismus badatelů, kteří předpokládali možnost úspěšného zvládnutí „srážkového managementu“ určité větší oblasti.

Doposud se má za to, že pro roli nukleačních center jsou důležitější spíše fyzikální parametry částic (rozměr, velikost povrchu) než jejich chemické vlastnosti. Ve sněžných dělech, vytvářejících umělý sníh na podobném principu²⁴ jako vznikají krystalky ledu v mracích, se využívají jako nukleační centra i určité typy proteinů. Nicméně např. fakt, proč právě jodid stříbrný je vhodnou očukující látkou, není zatím objasněn. S podobně zajímavým zjištěním týkajícím se specifického vlivu aerosolových částic antropogenního olova na vznik srážek (a případnou modifikaci počasí způsobenou Twomeyho efektem) přišel mezinárodní tým²⁵, který studoval chemické složení mraků na vrcholu švýcarské Jungfraujoch v zimních obdobích 2006 a 2007. Aerosolové částice obsahující olovo se ukázaly být jedním z nejefektivnějších nukleačních činidel – olovo bylo identifikováno přibližně v každém druhém ledovém krystalku mraku, zatímco z hlediska celkové populace aerosolových částic bylo nalezeno zhruba v každé dvacáté. Dovedeno ad absurdum je od tohoto zjištění již jen krok k úvahám, že za současným globálním oteplováním může stát používání bezolovnatého benzínu v posledních desetiletích a že vlastně přítomnost olova v ovzduší je důležitá pro „zdravé klima“ naší planety...

V literatuře lze nalézt informace popisující dílčí úspěchy při umělém vyvolání deště na úzce lokalizovaném území (např. vyvolání deště za účelem vyčištění ovzduší městských aglomerací v Číně či v Saudské Arábii). Důležitou roli při tom hrají meteorologické radary určující výšku mraků, jejich objem, trajektorii, rychlost a obsah vody. Způsob očukování mraků kondenzačními jádry (použitá látka, velikost částic, množství a způsob rozptýlení do mraku) pak je často předmětem patentové ochrany. V předchozích letech bádání však byla zejména podceňována složitost a různorodost meteorologických procesů a poznání fyziky mraků. Doba, kdy se umělé vyvolání deště stane jedním z vodohospodářských nástrojů, je tak stále ještě v nedohlednu.

Tato práce vznikla za podpory Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR, výzkumný záměr č. 6046137307.

LITERATURA

1. <http://zahranicni.ihned.cz/c1-33945730-cina-vyhlasila-stav-nouze-kvuli-suchu-zkusi-i-umely-dest>, staženo 5.2. 2009.
2. http://antistorm.isac.cnr.it/ANTISTORM_Science_final_report.pdf, staženo 9.4. 2009.
3. Brenig L., Mahrer Y., Offer Z.: *Geliotekhnika* 2, 84 (2001).
4. www.meteocentrum.cz, staženo 20. 11. 2007.
5. www.physicalgeography.net, staženo 20. 11. 2007.
6. Jungwirth P.: *Vesmír* 82, 196 (2003/4).
7. Day J. A.: *The Book of Clouds*, Sterling 2005.
8. Svoboda O.: *Bakalářská práce*. VŠCHT, Praha 2008.
9. Lohmann U., Feichter J.: *Atmos.Chem.Phys.* 5, 715 (2005).
10. Twomey S.: *Atmos. Environ.* 8, 1251 (1974).
11. Kaufman Y.J., Koren I.: *Science* 313, 655 (2006).
12. Ramanathan V., Crutzen P. J., Kiehl J. T., Rosenfeld D.: *Science* 294, 2119 (2001).
13. Rosenfeld D., Lohmann U., Raga G. B., O'Dowd C. D., Kulmala M., Fuzzi S., Reissell A., Andreae M. O.: *Science* 321, 1309 (2008).
14. Teller A., Levin Z.: *Atmos.Chem.Phys.* 6, 67 (2006).
15. Bruintjes R. T.: *Bulletin of American Meteorological Society* 80, 805 (1999).
16. Schaefer V. J.: *Science* 104, 457 (1946).
17. Vonnegut B.: *J. Appl. Meteor.* 27, 829 (1947).
18. Cotton W. R.: *Weather Modification by Cloud Seeding – A Status Report 1989–1997*, <http://rams.atmos.colostate.edu/gkss.html>, staženo 12.7.2008.
19. Smith P. L., Dennis A. S., Silverman B. A., Super A. B., Holroyd E. W., Cooper W. A., Mielke P. W., Berry K. J., Orville H. D., Miller J. R.: *J. Appl. Meteor.* 23, 497(1984).
20. Gagin A., Neumann J.: *J. Appl. Meteor.* 20, 1301 (1981).
21. Woodley W. L., Jordan B., Barnston A., Simpson J., Biondini R., Flueck J. A.: *J. Appl. Meteor.* 21, 139 (1982).
22. Woodley W. L., Barnston A., Flueck J. A., Biondini R.: *J. Appl. Meteor.* 22, 1529 (1983).
23. Mather G. K., Terblanche D. E., Steffens F. E., Fletcher L.: *J. Appl. Meteor.* 36, 1433 (1997).
24. Kratochvíl B., Chuchvalec P.: *Chem. Listy* 103, 329 (2009).
25. Cziczo D. J., Stetzer O., Worringer A., Ebert M., Weinbruch S., Kamphus M., Gallavardin S. J., Curtius J., Borrmann S., Froyd K. D., Mertes S., Möhler O., Lohmann U.: *Nat. Geosci.* 2, 333 (2009).

P. Chuchvalec and O. Svoboda (*Department of Physical Chemistry, Institute of Chemical Technology, Prague, Czech Republic*): **Physicochemical Aspects of Artificial Rainfalls**

Natural conditions necessary for the artificially generated rainfall are presented. The mechanism of formation of cloud condensation nuclei is described. Air pollution and smoke can increase or decrease the cloud cover. The activity of various nuclei in warm and cold clouds is discussed. Future prospects of research in this field are predicted.

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

POROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ TŘÍ ANALYTICKÝCH METOD PRO STANOVENÍ OBSAHU RUTINU V POHANCE TATARSKÉ

LENKA ŠTOČKOVÁ, EVA MATĚJOVÁ,
DAGMAR JANOVSKÁ a SVĚTLANA SÝKOROVÁ

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i., Drnovská 507,
Praha 6
stockova@vurv.cz

Došlo 22.2.08, přepracováno 3.10.08, přijato 5.12.08.

Klíčová slova: pohanka, rutin, porovnání metod

Úvod

Rutin (quercetin-3-rutinosid), někdy nazývaný vitamin P, je nejčastěji se vyskytující glykosidickou formou quercetinu¹. Tato látka je vyššími rostlinami syntetizována jako obrana vůči ultrafialovému záření a chorobám². Rutin jako sekundární metabolit rostlin se používá k léčení zvýšené lomivosti a propustnosti krevních vlásečnic způsobených různými chorobami (chorobná krvácivost na podkladě cévním, změny na sítnici při cukrovce, při nedostatku vitamínu C)³. Velmi významná je také jeho antioxidační účinnost – tj. schopnost působit proti volným radikálům^{3–5}. Z chemického hlediska se jedná o diglukosid polyfenolu quercetinu.

V současné době je za hlavní zdroj rutinu v dietě považována pohanka, a to zejména druhy pohanka tatarská (*Fagopyrum tataricum*) a pohanka obecná (*Fagopyrum esculentum*)¹. Pohanka dále obsahuje v menším množství i jiné flavonoidy – jmenovitě quercetin, kaempferol nebo kaempferol-3-rutinosid⁷ – které jsou rutinu strukturně podobné a také vykazují antioxidační účinky.

Existuje již mnoho studií zabývajících se obsahem rutinu v pohance a jiném rostlinném materiálu. Mezi často používané metody patří především spojení kapalinové chromatografie s UV detekcí^{1,2,5,6,9,11}, spektrofotometrické metody^{4,7,9,10} nebo v menší míře i elektrochemické metody^{12,13}.

Problémem spektrofotometrických metod mohou být interference s jinými strukturně podobnými látkami – zejména s quercetinem – a následné nadhodnocení výsled-

ků. Cílem této studie je porovnat výsledky tří analytických metod pro stanovení rutinu. Byla zvolena metoda chromatografická, kde nejsou žádné interference předpokládány. Dále byla vzhledem k četnosti použití srovnávána metoda spektrofotometrická za použití $AlCl_3$ a spektrofotometrická metoda pro stanovení rutinu dle AOAC, která je však apriori určena pro rutin v čisté, např. lékové formě.

Experimentální část

Materiál

Pro studii byl použit rostlinný materiál pohanky tatarské různého geografického původu (viz tab. I). Vzorky byly získány z Genové banky VÚRV, v. v. i. v Praze Ružyni, kde byly rostliny pěstovány na pokusných pozemcích. Pro analýzu byly použito max. 10 rostlin od každé varianty. Část rostlin byla rozdělena na jednotlivé partie (stonky, listy, nažky). Část rostlin byla ponechána nerozdělena a dále je označována jako celá rostlina. Vzorky byly sušeny v sušárně s nuceným oběhem vzduchu při 50 °C cca 96 hodin a poté byly jednotlivé partie jemně namlety na laboratorním mlýnku na částice o velikosti zhruba 0,01 mm.

Dále byly používány tyto látky: standard rutinhydrátu (Sigma Aldrich, SRN), chlorid hlinitý (Merck, SRN), kyselina octová 99,7+ % (Sigma Aldrich, SRN), voda pro chromatografii (Merck, SRN), methanol gradient grade (Merck, SRN).

Tabulka I
Analyzovaný materiál

Ozn.	Druh	Původ
A	<i>Fagopyrum tataricum</i> (L.) Gaertn.	Bhutan
B	<i>Fagopyrum tataricum</i> (L.) Gaertn.	USA
C	<i>Fagopyrum tataricum</i> (L.) Gaertn.	neznámý

Metody

Příprava vzorku

0,5 g umletého rostlinného materiálu (stonky, listy, semena, celé rostliny) bylo extrahováno 10 ml roztoku methanol : kyselina octová : voda 100:2:100 (v:v:v) 1 hodinu na třepačce při laboratorní teplotě. 2 ml extraktu byly centrifugovány 10 min při 9000 ot min⁻¹. Čirý supernatant byl zfiltrován přes mikrofiltr s regenerovanou celulóзовou membránou s velikostí pórů 0,22 μm.

Kapalinová chromatografie s UV detekcí¹⁴; dále jen HPLC/UV

Filtrát byl analyzován na kapalinovém chromatografu Waters Alliance 2690 (kolona Lichrospher 100RP-18 5 μm , 250 \times 4 mm) a eluován gradientovou elucí směsí methanolu (A) a vody (B) v prostředí 2% kyseliny octové. Gradient měl následující průběh: 0–2 min 20 % A, 2–4 min lineární vzestup na 60 % A, 6–8 min 60 % A, 8–10 min 20 % A.

Analyt byl detegován UV spektrometrem Waters 2487 při vlnové délce 355 nm v čase $R_t = 6$ min. Mez detekce byla u této metody stanovena na 0,05 mg ml^{-1} . Kvantifikace byla provedena metodou vnějšího standardu – kalibrační křivky. Odezva detektoru byla lineární v rozsahu koncentrací 0,1–1 mg ml^{-1} a pokud byl obsah rutinu ve vzorku mimo rozsah linearitu, byl vzorek vhodně zředěn extrakčním činidlem. Opakovatelnost této metody vypočtená jako relativní směrodatná odchylka osmi opakování byla 4,6 %.

Spektrofotometrická metoda využívající AlCl_3 (cit.¹); dále jen SPFM

40 μl supernatantu používaného pro stanovení HPLC/UV bylo 50 \times zředěno extrakční směsí. K takto zředěnému extraktu bylo přidáno 0,2 ml 5% AlCl_3 v methanolu nebo 0,2 ml čistého methanolu pro zjištění absorbance pozadí. Po třicetiminutové inkubaci při laboratorní teplotě byla změřena absorbance při vlnové délce 420 nm u obou roztoků. K měření byl používán spektrofotometr Genesys 10UV.

Limit detekce byl stanoven na 0,001 mg ml^{-1} . Obsah rutinu byl kvantifikován metodou vnějšího standardu – kalibrační křivky z hodnoty rozdílu absorbance vzorku a pozadí. Kalibrační křivka byla lineární v rozsahu koncentrací 0,002–0,02 mg rutinu ml^{-1} . Opakovatelnost jako relativní směrodatná odchylka osmi opakování byla 5,3 %.

Spektrofotometrická metoda podle AOAC⁶ (Association of Official Analytical Chemists); dále jen dle AOAC

Supernatant používaný pro HPLC byl 50 \times zředěn směsí methanol : kyselina octová : voda 11:1:8 (v:v:v). Poté byla měřena na spektrofotometru Genesys 10UV absorbance při 352,5 nm a 366,5 nm. Koncentrace rutinu byla vypočtena dle soustavy následujících rovnic.

$$A_{366,5} = \left(A_{R,366,5} \times r / 0,02 \right) + \left(A_{Q,366,5} \times q / 0,01 \right)$$

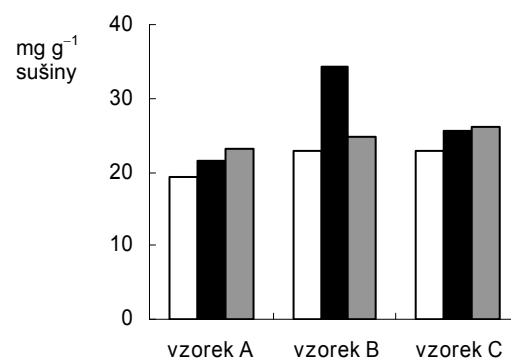
$$A_{352,5} = \left(A_{R,352,5} \times r / 0,02 \right) + \left(A_{Q,352,5} \times q / 0,01 \right)$$

kde A je absorbance vzorku při dané vlnové délce, $A_{R'}$ jsou absorbance standardního roztoku rutinu ($c = 0,02 \text{ mg ml}^{-1}$) při dané vlnové délce, jak je uvedeno v příslušném dolním indexu a $A_{Q'}$ jsou absorbance standardního roztoku quercetinu ($c = 0,01 \text{ mg ml}^{-1}$). Písmena r, q značí koncentraci rutinu resp. quercetinu v analyzovaném vzorku v mg ml^{-1} .

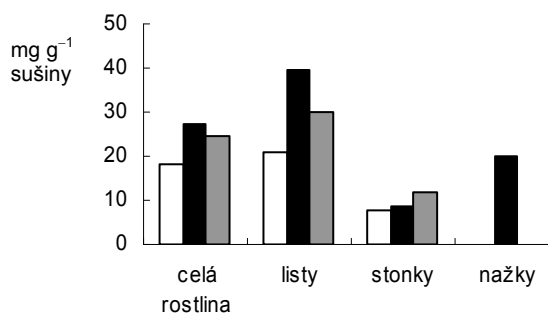
Limit detekce byl stanoven na 0,002 mg rutinu ml^{-1} . Opakovatelnost jako relativní směrodatná odchylka osmi opakování byla 5,2 %.

Statistické vyhodnocení

Statistická analýza byla provedena počítačovými programy Excel a MultiQC 5. Metody stanovení rutinu byly graficky porovnány pomocí x-y grafu rozptylu¹⁵, s využitím programu MultiQC 5. Soubory dat příslušící jednotlivým metodám byly testovány na shodnost středních hodnot párovým oboustranným t-testem vždy pro každou část rostliny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ a shodnost výsledků všech tří metod byla ověřována jednofaktorovým testem ANOVA na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Pro dvojice souborů dat byly stanoveny korelační koeficienty.



Obr. 1. Celkový obsah rutinu [mg g⁻¹ sušiny] ve třech vzorcích pohanky tatarské různého geografického původu (viz tab. I); □ stanovení HPLC/UV, ■ spektrofotometrické stanovení s AlCl_3 , ■ spektrofotometrické stanovení podle AOAC



Obr. 2. Porovnání obsahu rutinu [mg g⁻¹ sušiny] v jednotlivých částech rostlin; □ stanovení HPLC/UV, ■ spektrofotometrické stanovení s AlCl_3 , ■ spektrofotometrické stanovení podle AOAC

Výsledky a diskuse

Byl stanoven obsah rutinu v jednotlivých částech rostlin i v celých rozemletých rostlinách (tzv. celkový rutin), vždy ve třech opakováních na třech nezávislých vzorcích (tab. II).

Celkový obsah rutinu se mezi jednotlivými variantami pohanky tatarské významně neliší; nejvyšší celková koncentrace rutinu ($19,01 \text{ mg g}^{-1}$ sušiny metodou HPLC/UV) byla zaznamenána u vzorku B *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn. původem z USA (obr. 1). Velké rozdíly v obsahu rutinu jsou však mezi jednotlivými částmi rostliny. Nejvyšší koncentrace rutinu byla stanovena v listech pro všechny tři varianty a naopak stonky vždy obsahují výrazně menší množství rutinu (obr. 2), což odpovídá výsledkům již uveřejněných studií^{1,3,14}.

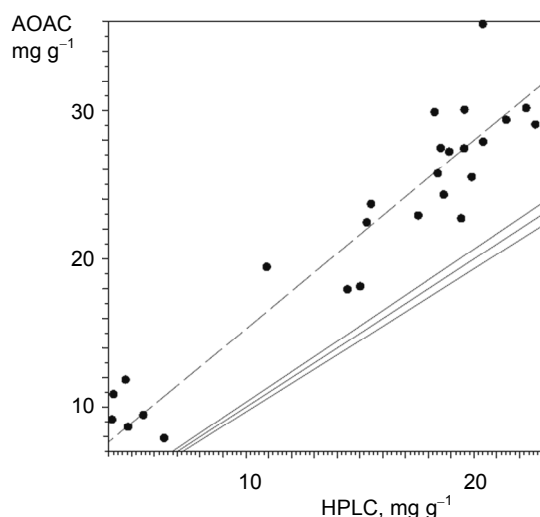
V semenech rostlin byl obsah rutinu stanovený metodou HPLC/UV pod mezí detekce a stanovení dle AOAC dávalo dokonce záporné výsledky, což naznačuje, že v případě nižších hladin rutinu, zvláště ve spojení s vyšším obsahem interferentů, není možné tuto metodu použít.

Spektrofotometrickou metodou využívající AlCl_3 byl však průměrný obsah rutinu stanoven na 20 mg g^{-1} sušiny. Vzhledem k tomu, že obsah rutinu je podle obou výše uvedených metod nulový, je pravděpodobné, že se na této hodnotě podílí jiné látky než rutinový komplex s Al^{3+} , taktéž absorbující při vlnové délce 420 nm .

V literatuře je uváděn obvyklý obsah rutinu v semenech v mezích 0,8 a 1,7 % sušiny¹¹. Pro rozdíl mezi literárními a naměřenými údaji nebylo nalezeno jednoznačné vysvětlení, možné je, že za skladovacích podmínek analyzovaných materiálů (bez přístupu světla, relativní

vlhkost do 40 % a laboratorní teplota po dobu tří měsíců) proběhly v semenech chemické změny, konkrétně přeměna rutinu na jinou látku (např. quercetin), kterou méně specifická metoda (spektrofotometrická s AlCl_3) stanoví jako rutin.

Při analýze listů rostlin byl obsah rutinu stanovený SPFM oproti výsledkům HPLC/UV vyšší o 70–120 %. Metoda dle AOAC nadhodnocovala méně v rozsahu 30 až 50 %.



Obr. 3. Grafické porovnání metod stanovení rutinu pomocí x-y grafu rozptylu pro metodu HPLC/UV (HPLC) a spektrofotometrické stanovení dle AOAC (AOAC); --- přímka rovnosti, — přímka rovnosti s vymezeným pásem spolehlivosti (± 2 standardní odchylky metody HPLC/UV)

Tabulka II

Obsah rutinu [mg g^{-1} sušiny] ve třech vzorcích pohanky tatarské různého geografického původu

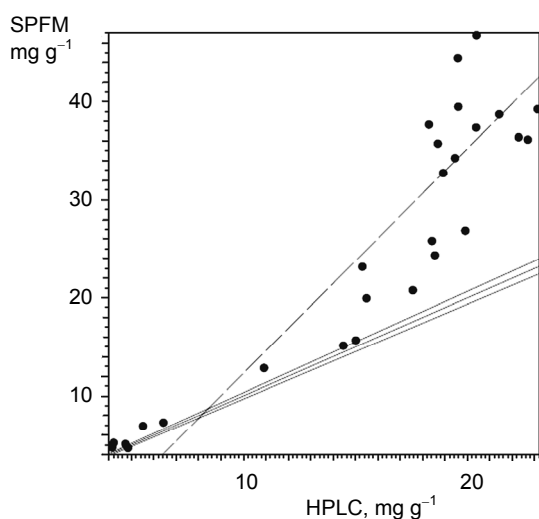
Vzorek ^a	Použitá metoda	Spektrofotometrické stanovení s AlCl_3 [mg g^{-1} sušiny]	HPLC/UV [mg g^{-1} sušiny]	Spektrofotometrické stanovení dle AOAC [mg g^{-1} sušiny]
A	celá rostlina	21,54	16,12	23,02
	listy	42,95	19,42	28,41
	stonky	5,73	4,82	8,03
	nažky	19,71	pod LOD	pod LOD
B	celá rostlina	34,23	19,01	24,75
	listy	37,06	22,14	29,54
	stonky	13,96	13,47	18,52
	nažky	20,11	pod LOD	pod LOD
C	celá rostlina	25,66	18,96	26,23
	listy	38,41	21,04	31,44
	stonky	5,56	5,14	8,57
	nažky	20,46	pod LOD	pod LOD

^a *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn geografický původ Bhutan (A), USA (B) a neznámý (C)

Tabulka III

Nadhodnocení výsledků [%] spektrofotometrických metod oproti stanovení metodou HPLC/UV (HPLC/UV = 100%)

Část rostliny	Spektrofotometrické stanovení s AlCl_3	Spektrofotometrické stanovení dle AOAC
Stonky	107,8	149,9
Listy	189,2	142,8
Nažky	nepočitatelné	není
Celá rostlina	150,5	136,8

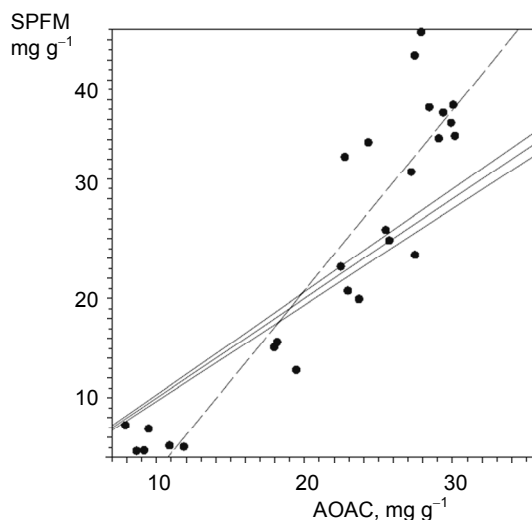


Obr. 4. Grafické porovnání metod stanovení rutinu pomocí x-y grafu rozptylu pro metodu HPLC/UV (HPLC) a spektrofotometrické stanovení s AlCl_3 (SPFM); --- přímka rovnosti, — přímka rovnosti s vymezeným pásem spolehlivosti (± 2 standardní odchylky metody HPLC/UV)

Ve výsledcích analýzy stonků se shodovaly metody HPLC/UV a SPFM, zatímco hodnoty získané metodou dle AOAC byly o 20–60 % vyšší. Procentuální nadhodnocení výsledků spektrofotometrických metod vůči HPLC/UV je popsáno v tab. III.

Porovnáním všech výsledků jsme zjistili stabilní trend, kdy nejnižší hodnotu udává HPLC a výsledky spektrofotometrických metod jsou podle konkrétní části rostliny srovnatelné nebo spíše vyšší. Pokud jsou z testovaných souborů hodnot eliminovány výsledky stanovení rutinu v semenech, je korelace mezi jednotlivými metodami dobrá, převyšující 90 %. Nadhodnocení výsledků spektrofotometrickými metodami a vysoké korelační koeficienty jsou v souladu s výsledky jiných autorů¹. Grafické znázornění porovnání metod je znázorněno na obr. 3–5.

Porovnání přímky rovnosti ($x = y$) s vymezeným pásem spolehlivosti $\pm 2\text{RSD}$ (relativní směrodatné odchylky z osmi opakování představující opakovatelnost metody) a přímky lineární regrese pro skutečné dvojice odpovídajících hodnot (obr. 3–5) ukazuje, že výsledky metod nejsou



Obr. 5. Grafické porovnání metod stanovení rutinu pomocí x-y grafu rozptylu pro spektrofotometrické stanovení dle AOAC (AOAC) a spektrofotometrické stanovení s AlCl_3 (SPFM); --- přímka rovnosti, — přímka rovnosti s vymezeným pásem spolehlivosti (± 2 standardní odchylky metody AOAC)

v žádném případě volně zaměnitelné. Soubory dat příslušící jednotlivým metodám byly testovány na shodnost středních hodnot párovým oboustranným t-testem. Na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ lze zamítnout hypotézu rovnosti pro všechny testované soubory.

Jednofaktorová analýza rozptylu potvrdila vliv metody na výsledky analýz. Vysoké korelační koeficienty (viz tab. IV) znamenají, že při porovnávání hodnot získaných vždy jednou metodou, by počáteční výběr analytické metody neměl konečně relativní výsledky výrazně ovlivnit.

Závěr

Byly porovnány tři analytické metody na stanovení obsahu rutinu v rostlinném materiálu – dvě spektrofotometrické a metoda využívající vysokoučinnou kapalinovou chromatografii. Výsledky jednotlivých metod spolu korelují, vyjma hodnot stanovení rutinu v semenech pohanky, nicméně metody nejsou shodné a volně zaměnitelné.

Hodnoty stanovené metodou HPLC/UV byly cca o 10 až 20 % nižší než při použití obou spektrofotometrických metod. Spektrofotometrická metoda s AlCl_3 významněji nadhodnocuje obsah rutinu v listech a semenech, zatímco metoda dle AOAC nadhodnocuje obsah rutinu ve stoncích oproti oběma použitým metodám.

Získané výsledky se shodují s literárními údaji v metodické studii rutinu v pohance obecné (*Fagopyrum esculentum* Moench)¹. Je možno konstatovat, že při měření určitých souborů vzorků rostlinného materiálu a vzájemném porovnávání stanovených koncentrací rutinu v jednotlivých položkách, mohou být použity všechny tři výše uvedené metody.

Výsledků bylo dosaženo při řešení projektu QH 92111.

LITERATURA

- Kreft S., Štrukejl B., Gaberščík A., Kreft I.: *J. Exp. Bot.* 53, 1801 (2002).
- Gaberščík A., Vončina M., Trost T., Germ M., Björn L. O.: *J. Photochem. Photobiol., B* 66, 30 (2002).
- Kreft I., Fabjan N., Yasumoto K.: *Food Chem.* 98, 508 (2006).
- Mikulajová A., Takácsová M., Alexy P., Brindzová L.: *Chem. Listy* 101, 563 (2007).
- Jiang P., Burczynski F., Campbell C., Pierce G., Austria J. A., Briggs C. J.: *Food Res. Int.* 40, 356 (2007).
- Deineka V. I., Grigoriev A. M., Staroverov V. M.: *Pharm. Chem. J.* 38, 487 (2004).
- Benguo L., Yongyi Z.: *J. Food Eng.* 78, 584 (2007).
- Horwitz W., Latimer G.W.: *Official Methods of Analysis of AOAC*. AOAC International, Gaithersburg 2005.
- Holasova M., Fiedlerova V., Smrcinova H., Orsak M., Lachman J., Vavreinova S.: *Food Res. Int.* 35, 207 (2002).
- Hassan H. N. A., Barsoum B. N., Habib I. H. I.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 20, 315 (1999).
- Kim K. H., Lee K. W., Kim D. Y., Park H. H., Kwon I. B., Lee H. J.: *Bioresour. Technol.* 96, 1709 (2005).
- Malagutti A. R., Zuin V. G., Cavalheiro E. T. G., Mazo L. H.: *Electroanalysis* 18, 1028 (2006).
- Mousty C., Cosnier S., Lopez M. S.-P., Lopez-Cabarcos E., Lopez-Ruiz B.: *Electroanalysis* 19, 253 (2007).
- Matejova E., Sykorová S., Janovská D.: *Proceedings of the 10th International Symposium on Buckwheat "Advances in buckwheat research", Yangling, Shaanxi 14-18 August 2007* (Ohmi Ohnishi ed.), str. 137. Northwest A and F University, Yangling, Shaanxi 2007.
- Bland J. M., Altman D. G.: *Lancet* 327, 307 (1986).

L. Štočková, E. Matějová, D. Janovská, and S. Sýkorová (*Crop Research Institute, Prague, Czech Republic*): **Comparison of Analytical Methods for Rutin Determination in Tartary Buckwheat**

Rutin is a natural antioxidant useful for human health. The aim of this study was to compare some analytical methods for rutin determination in a plant material – tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.) – of different origin. The methods used were HPLC/UV and two spectrophotometries. Both spectrophotometric methods gave higher values than HPLC/UV. The results mutually correlated well, except those obtained by the spectrophotometric method using $AlCl_3$. The method proved unsuitable for the purpose. The other spectrophotometric method overestimated the rutin content in leaves and stems.

Li⁺ A H⁺ VODIVÉ POLYMERNÍ ELEKTROLYTY S KOVALENTNĚ VÁZANÝMI ANIONTY

JAKUB REITER^{a,*}, JIŘÍ MICHÁLEK^{b,c},
MARTIN PŘÁDNÝ^{b,c}, DANA CHMELÍKOVÁ^b
a JAKUB ŠIRC^{b,c}

^a Ústav anorganické chemie AV ČR, v.v.i., 250 68 Řež,
^b Ústav makromolekulární chemie AV ČR, v.v.i., 162 06
Praha, ^c Centrum buněčné terapie a tkáňových náhrad,
Univerzita Karlova v Praze, 150 18 Praha
reiter@iic.cas.cz

Došlo 4.3.08, přepracováno 25.11.08, přijato 18.12.08.

Klíčová slova: polymerní gelové elektrolyty, lithium-methakrylát, kyselina methakrylová, lithno-iontové baterie, lithium, palivové články

Úvod

Významnou součástí současného základního i aplikačního výzkumu je vývoj nových materiálů pro systémy výroby, akumulace a transportu elektrické energie. Jde o solární články, palivové články, hybridní automobily, technologii jaderných zařízení apod. Současný výzkum moderních chemických zdrojů elektrické energie, jako jsou např. palivové články, primární i sekundární baterie a superkondenzátory, je zaměřen na hledání nových materiálů, které nahrazují doposud používané dražší látky nebo látky nebezpečné pro životní prostředí¹. Tyto nové materiály mají často vlastnosti, které umožňují jejich aplikaci i v jiných oblastech, jako je konstrukce elektrochemických senzorů nebo elektrochromních zařízení^{2,3}. Hlavním úkolem je nahradit doposud používané kapalné elektrolyty pevnými, ať již anorganickými systémy či organickými polymery⁴.

Mezi nejpřespektivnější a široce studované materiály patří polymerní gelové elektrolyty, tj. systémy polymerů, v jejichž strukturách je zakotveno aprotické rozpouštědlo a ionty nebo soli. Vlastnosti první generace těchto elektrolytů na bázi poly(ethylenoxidu) byly uveřejněny v sedmdesátých letech^{5,6} a doposud byla připravena celá řada systémů s nejrůznějšími polymery a zakotvenými organickými i anorganickými látkami (anorganické soli, iontové kapaliny, organické látky, enzymy apod.). Obvykle tedy jde o binární systémy polymer–sůl (např. PEO–

LiClO₄) nebo ternární systémy polymer–rozpouštědlo–sůl. Na rozdíl od systému PEO–LiClO₄, kde se ionty pohybují podél organických řetězců PEO, u gelových (ternárních) elektrolytů jsou ionty lokalizovány především v mikroskopické kapalné fázi a tudíž tyto systémy vykazují vodivost za běžných podmínek o 2–3 řády vyšší, tj. 10⁻⁴ až 10⁻³ S cm⁻¹. Zde dochází k procesům a interakcím obdobným jako v kapalných elektrolytech (solvatace, asociace iontů), a proto má na celkovou vodivost elektrolytu vliv nejen absolutní koncentrace soli, ale také poměr obsahů rozpouštědla a soli.

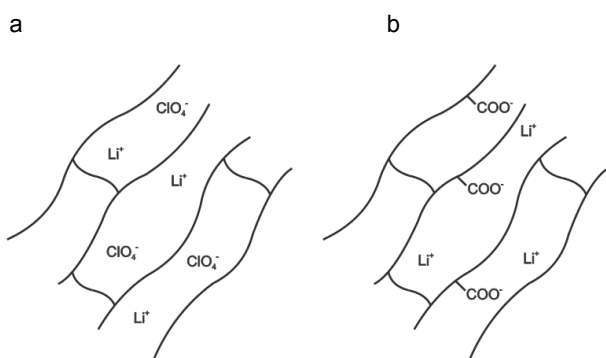
Polymerní gelové elektrolyty lze popsat jako roztok elektrolytu v aprotickém rozpouštědle zakotvený ve struktuře polymeru. Jde tedy o iontový systém, který obsahuje pohyblivé kationty i anionty, jejichž příspěvek k náboji procházejícímu během elektrochemického procesu elektrolytem lze popsat převodovými čísly t_+ a t_- a jejich pohyblivost difuzními koeficienty D_+ a D_- nebo pohyblivostmi u_+ a u_- . Zatímco publikované hodnoty vodivosti jednotlivých elektrolytů jsou měřeny metodami založenými na střídavém napětí, v reálné aplikaci (palivové články nebo lithno-iontové baterie) probíhá ohmická polarizace stejným směrem napětím v čase odpovídajícím nabíjení/vybíjení (baterie) nebo provozní době (palivové články). Během těchto dlouhodobých procesů vznikají ve struktuře elektrolytu koncentrační gradienty iontů a oblasti ochuzené především o kationty (Li⁺ nebo H⁺). Tato ohmická polarizace snižuje kapacitu zdroje energie, neboť pokles vodivosti v elektrolytu v důsledku ohmické polarizace může být až tisícinašobný. Praktickým důsledkem nárůstu odporu elektrolytu je značný pokles proudu, který je z elektrochemického článku (lithno-iontové baterie nebo palivového článku) odebírán.

Řešením je tedy připravit elektrolyt, u kterého je převodové číslo kationtu t_+ blízké nebo rovné 1, čili veškerý protékající proud je nesen kationty (Li⁺ nebo H⁺). Tohoto jevu lze dosáhnout u aniontů kovalentně vázaných na strukturu polymeru, jako je např. kopolymer tetrafluorethenu a kyseliny perfluor-4-methyl-3,6-dioxa-okt-7-en-1-sulfonové (Nafion)⁷. Na obr. 1 jsou srovnány struktury gelového polymerního elektrolytu (dlouhé řetězce nepravidelně zesíťované) s přítomnou anorganickou solí (LiClO₄) a elektrolytu s kovalentně vázaným aniontem (karboxylová skupina) a pohyblivým kationtem.

Z obrázku je dobře vidět, že pohyblivost karboxylové skupiny je omezena její kovalentní vazbou na polymerní řetězec. V čistě kationtovém vodiči se nevytvří koncentrační gradient a nevzroste vnitřní odpor a připravené elektrolyty budou výrazně odolnější k vyšším odběrům proudu ze zařízení.

V této práci byly připraveny elektrolyty – kopolymery kyseliny methakrylové nebo lithium-methakrylátu s 2-ethoxyethyl-methakrylátem nebo ethylenglykolmethylether-

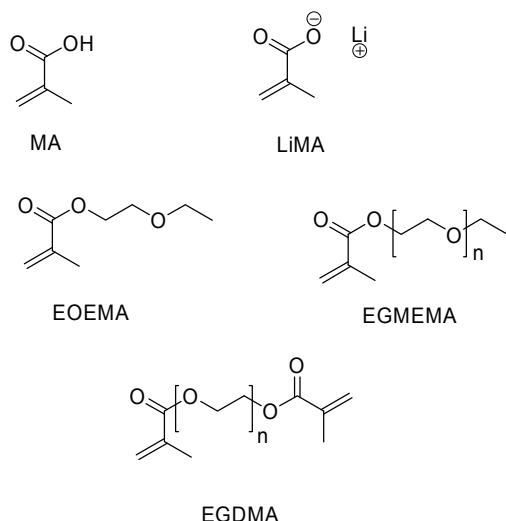
* Jakub Reiter získal cenu firmy Shimadzu za rok 2007.



Obr. 1. Schéma struktury polymerního gelového elektrolytu obsahujícího volně pohyblivé ionty (A) a elektrolytu s kovalentně vázaným aniontem (B); molekuly rozpouštědla nejsou zakresleny

methakrylátem, kde anion – karboxylová skupina – je kovalentně vázán na polymerní řetězec. Kromě binárních kopolymerů byly připraveny a studovány elektrolyty, které obsahovaly propylen-karbonát nebo dimethylformamid – aprotická rozpouštědla s vysokou permitivitou, která se používají v elektrochemii pro své dobré elektrochemické vlastnosti. Tato práce navazuje na náš předchozí výzkum ternárních elektrolytů na bázi methakrylátů^{8–10}. Výše uvedené látky byly vybrány vzhledem k plánované aplikaci v palivových člancích (H^+ elektrolyty) a lithno-iontových bateriích (Li^+ elektrolyty). Na obr. 2 jsou uvedeny strukturální vzorce použitých monomerů.

Výzkum polymerních elektrolytů s kovalentně vázanými anionty navazuje na práce M. B. Armanda⁶. D. J. Bannister popsal vlastnosti elektrolytu PEO s lithium-2-sulfoethyl-methakrylátem nebo lithium-2-[(hexafluor-4-



Obr. 2. Strukturální vzorce použitých monomerů; (viz seznam zkratk na konci práce)

-karboxylatobutanoyl)oxy]ethyl-methakrylátem, kdy při $100\text{ }^\circ\text{C}$ bylo dosaženo vodivosti řádově 10^{-5} S cm^{-1} , vodivost při běžných teplotách zůstala nízká¹¹. H. Ohno se zabýval kopolymerem methakrylátů alkalických kovů (Li^+ až Cs^+) s PEO, kdy u elektrolytu s Cs^+ našel vodivost $2 \cdot 10^{-4}\text{ S cm}^{-1}$ a u elektrolytu s Li^+ méně než 10^{-6} S cm^{-1} (cit.¹²). Navzdory nízkým vodivostem Ohno úspěšně testoval tyto elektrolyty v elektrochromních prvcích¹³. Kromě kopolymerů obsahujících karboxylovou skupinu byly popsány i elektrolyty s lithium-(methakryloyloxy)hexan-1-sulfonátem¹⁴.

Experimentální část

Použité chemikálie

Monomery, EOEMA a MA (Fluka) byly čištěny destilací za sníženého tlaku (pro odstranění stabilizátorů). EGMEMA ($M_n \approx 300$, Sigma-Aldrich) byl použit bez úprav.

Hexan-1,6-diol-dimethakrylát (Fluka AG) a ethylen-glykol-dimethakrylát ($M_n \approx 330$, Sigma-Aldrich) byly použity bez úprav. Benzoineethylether (Sigma-Aldrich) byl překrystalován z chloroformu. PC (> 99,7 %, bezvodý, Sigma-Aldrich) a DMF (bezvodý, Merck) byly uchovávány při laboratorní teplotě nad molekulovým sítem.

LIMA byl připraven neutralizací nasyceného roztoku hydroxidu lithného (Sigma-Aldrich) v methanolu s 5 hm.% vody ekvimolárním množstvím MA (Fluka) při $10\text{ }^\circ\text{C}$ (za chlazení ledem), rekrystalizací z methanolu a vakuovým vysušením soli.

Příprava polymerních elektrolytů

Polymerní elektrolyty byly připraveny síťující polymerizací monomerů za přítomnosti iniciátoru a síťovadla UV zářením (dvojice lamp 15 W ReptiGlo 8.0 se zdrojem napětí Glomat 2.0; obě Hagen, ČR). U systémů s aprotickým rozpouštědlem byl ve výchozí směsi obsažen také PC. Polymerizační směs byla probublána 5 až 6 min dusíkem. Poté byla dusíkem propláchnutá polymerizační cela (polypropylenová a skleněná deska $7 \times 7 \times 0,4\text{ cm}$ oddělené rámečkem ze silikonové fólie a sevřené svorkami), naplněna injekční stříkačkou a uložena pod UV lampu po dobu 1,5–2 hodin.

Připravené gelové elektrolyty jsou pevné a elastické materiály ve formě fólií (tloušťka 0,5–1 mm). Vzniklé vzorky jsou bezbarvé nebo lehce mléčně zakalené, na omak lepkavé, ale nezanechávající žádné stopy na skle nebo jiných materiálech. Připravené elektrolyty jsou dlouhodobě mechanicky stálé a lze z nich snadno vyřezávat potřebné fólie.

Použité přístroje a postupy

Základními přístroji pro elektrochemická měření byly potenciogalvanostaty Autolab PGSTAT 10 a PGSTAT 30 (Eco Chemie, Utrecht, Holandsko), vybavené jednotkou

FRA–2 pro impedanční měření (elektrochemická impedanční spektroskopie).

Pro vodivostní měření bylo použito dvouelektrodové uspořádání, kdy byl vzorek gelového elektrolytu (2×2 cm) vložen mezi dvě paralelní elektrody z nerezové oceli. Jednotkou FRA–2 bylo změřeno impedanční spektrum v rozsahu frekvencí 150 kHz až 0,1 Hz. Získané impedanční spektrum bylo analyzováno s použitím programu FRA dodávaného k impedančnímu modulu. Výsledkem analýzy bylo schéma náhradního obvodu, který popisuje studovaný systém. Klíčovou informací v tomto případě byla hodnota odporu studovaného elektrolytu, ze které lze vypočítat hodnotu specifické vodivosti.

Voltametrická měření byla prováděna v PTFE nádobce vyvinuté Vondrákem a Klápštěm¹⁵ se zlatou pracovní elektrodou (Bioanalytical, Warwickshire, Velká Británie; průměr 1,6 mm) a pomocnou elektrodou ze skelného uhlíku (průměr 6,1 mm). Jako referentní byla použita elektroda PMMA–Cd–Cd²⁺ vyvinutá v naší laboratoři¹⁶ ($E(\text{PMMA–Cd–Cd}^{2+}) = 2,66 \text{ V vs. Li/Li}^+$, resp. $-0,44 \text{ V vs. SCE}$; měřeno v propylen-karbonátu při 20 °C).

Termogravimetrická analýza byla provedena na přístroji Netzsch STA 409 (Selb, Německo) v atmosféře vzduchu se zahříváním $5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$.

Výsledky a diskuse

Optimalizace složení elektrolytu

Prvním krokem bylo nalezení vhodné kombinace monomeru s funkční karboxylovou skupinou a aprotického monomeru, který je přítomen jako další složka polymerního řetězce. Nejlepších výsledků bylo dosaženo u elektrolytů obsahujících EOEMA nebo EGMEMA. Ve srovnání s alkyl-methakryláty, které byly testovány v předchozích letech^{8–10,15}, jde o aprotické polymery o vyšší polaritě v důsledku přítomnosti etherových skupin. Interakce iontů H⁺ a Li⁺ s kyslíkovými atomy zvyšuje jejich pohyblivost.

EOEMA i EGMEMA jsou kompatibilní s kyselinou methakrylovou, tj. během polymerizace nedošlo k separaci jednotlivých složek. Série kopolymerů MA–EOEMA o složení 5:95, 10:90, 20:80, 30:70, 40:60 a 50:50 mol.% poskytla homogenní vzorky. Při obsahu kyseliny methakrylové nad 20 mol.% jsou vzorky příliš tuhé. Potřebné pevnostně-deformační vlastnosti polymerního elektrolytu jsou závislé na dostatečném obsahu EOEMA. Kopolymery o složení MA a EOEMA 5:95 a 10:90 mol.% jsou elastické a dobře opracovatelné.

Další skupina kopolymerů poly(MA–EOEMA) byla připravena s PC, který ve vzorcích působí jako plastifikátor a zároveň vytváří prostředí vhodné pro transport kationtů vzhledem ke své vysoké permitivitě (zvýšení disociace a změna pohyblivosti iontů solvatací). Pro potvrzení předpokladu příznivého vlivu EOEMA na výsledné mechanické vlastnosti vzorku byl připraven homopolymer poly(MA)–PC 25:75 mol.%. Vzorek skutečně vykazoval

špatné mechanické vlastnosti (nízká elasticita a pevnost), které znemožnily další manipulaci a měření.

Testování mechanických vlastností kopolymerů poly(MA–EOEMA)–PC a poly(MA–EGMEMA)–PC ukázalo, že pro dobré mechanické vlastnosti je nutné u řady poly(MA–EOEMA)–PC zachovat ekvimolární poměr MA a EOEMA. I poměrně malé odchylky způsobují buď výrazné zhoršení mechanických vlastností (vyšší obsah MA) nebo snížení vodivosti (vyšší obsah EOEMA, viz odst. Vodivostní a impedanční měření).

U kopolymerů obsahujících EGMEMA bylo možné připravit elektrolyty s jeho nižším obsahem a zvýšit tak obsah aprotického rozpouštědla. Nejlepší mechanické vlastnosti byly nalezeny u elektrolytů s obsahem MA asi 20 mol.%.

Před přípravou elektrolytů obsahujících lithné ionty, tedy kopolymerů obsahujících LiMA, byly nejprve provedeny orientační zkoušky rozpustnosti LiMA ve vybraných organických rozpouštědlech. V organických karbonátech (propylen-, ethylen- a dimethyl-karbonátu) a v tetraethylglykoldimethyletheru (tetraglymu) se LiMA prakticky nerozpouští a tudíž není možné připravit příslušné polymerní elektrolyty. Naopak v DMF je dobře rozpustný. Proto bylo v dalších experimentech použito toto aprotické rozpouštědlo.

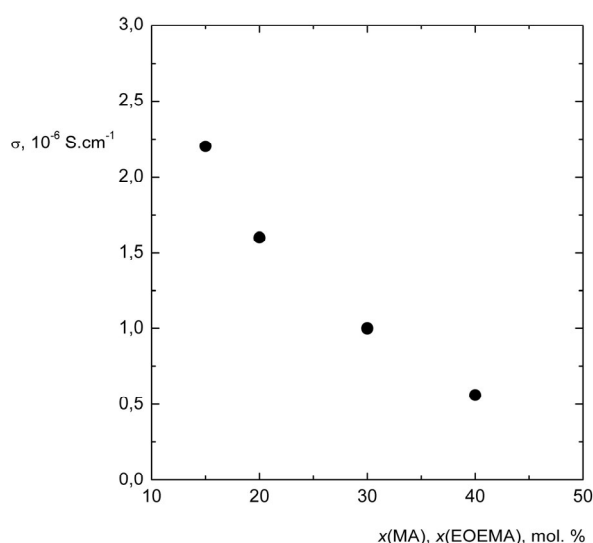
Vzhledem k nízkým vodivostem kopolymeru poly(MA–EOEMA) a malé rozpustnosti LiMA v EOEMA byly připraveny polymerní elektrolyty poly(LiMA–EOEMA)–DMF a poly(LiMA–EGMEMA)–DMF. U kopolymerů bylo optimalizováno složení tak, aby polymerní elektrolyty byly dostatečně pevné a elastické. Na rozdíl od polymerních elektrolytů s MA, které jsou obvykle lehce opalescentní, jde o čistě bezbarvé a transparentní fólie.

Ve všech polymerních elektrolytech byla použita také síťovadla, tj. monomery se dvěma aktivními místy podléhajícími radikálové polymerizaci (HexadiMA pro EOEMA a EGDMA pro EGMEMA) v koncentraci 0,3 mol.% obsahu monomerů. Síťovadla byla použita na základě našeho předchozího zjištění, že při mírném zesíťování struktury polymeru (viz obr. 1) se iontová vodivost významně zvyší⁹.

Vodivostní a impedanční měření

Jak již bylo uvedeno, je nutné rozlišovat iontovou vodivost elektrolytu zjištěnou metodami založenými na střídavém (*ac* vodivost) nebo na stejnosměrném napětí (*dc* vodivost). Tyto hodnoty se mohou lišit až o tři řády, což má velký význam pro funkci elektrolytu v elektrochemickém článku. U elektrolytů s kovalentně vázaným aniontem jsou však obě dvě hodnoty totožné.

U binárních kopolymerů poly(MA–EOEMA) impedanční měření ukázalo velmi nízkou vodivost těchto kopolymerů při laboratorní teplotě, 10^{-10} až $10^{-9} \text{ S cm}^{-1}$. Nízká hodnota je způsobena malou pohyblivostí H⁺ iontu, který je silně elektrostaticky vázán ke karboxylové skupině. U nejvíce vodivého kopolymeru poly(MA–EOEMA) 5:95 mol.% se vodivost při teplotě 70 °C zvýšila jen mírně, na



Obr. 3. Vliv obsahu MA a EOEMA v elektrolytu na iontovou vodivost při 20 °C; elektrolyt poly(MA–EOEMA)–PC s ekvimolárním poměrem MA–EOEMA

$2,3 \cdot 10^{-9} \text{ S cm}^{-1}$. Lithium-methakrylát není rozpustný v EOEMA ani v EGMEMA, nebylo tudíž možné připravit obdobné vzorky poly(LiMA–EOEMA) a poly(LiMA–EGMEMA).

Jak již bylo dříve popsáno¹⁷ a potvrzeno i v našich experimentech⁹, přítomné aprotické rozpouštědlo výrazně zvyšuje pohyblivost iontů, které se ve struktuře polymerního elektrolytu nacházejí především v mikroskopické kapalně fázi. Ionty jsou zde molekulami rozpouštědla solvotvány.

Podle dosažených výsledků byla připravena další řada vzorků, kopolymerů poly(MA–EOEMA)–PC o složení 15:15:70, 20:20:60, 30:30:40, 40:40:20 mol.%. Tyto elektrolyty byly pevné a jejich konzistence a elasticita byly

Tabulka I

Specifické vodivosti (20 °C) polymerních elektrolytů s kyselinou methakrylovou nebo lithium-methakrylátem

Elektrolyt	Složení [mol.%]	σ (20 °C) [S cm^{-1}]
Poly(MA–EOEMA)	5 : 95	$1,0 \cdot 10^{-9}$
Poly(MA–EOEMA)–PC	15 : 15 : 70	$2,2 \cdot 10^{-6}$
Poly(MA–EOEMA)–PC	20 : 30 : 50	$8,7 \cdot 10^{-9}$
Poly(MA–EGMEMA)–PC	20 : 5 : 75	$2,1 \cdot 10^{-6}$
Poly(LiMA–EOEMA)	nelze připravit	–
Poly(LiMA–EOEMA)–PC	nelze připravit	–
Poly(LiMA–EOEMA)–DMF	8 : 17 : 75	$5,4 \cdot 10^{-5}$
Poly(LiMA–EGMEMA)–PC	nelze připravit	–
Poly(LiMA–EGMEMA)–DMF	10 : 5 : 85	$1,9 \cdot 10^{-4}$

dostatečné pro další manipulaci. Jejich impedanční měření ukázalo značný nárůst vodivosti, a to až o 4 řády, ve srovnání s řadou poly(MA–EOEMA). Na obr. 3 je vidět značný pokles vodivosti s rostoucím obsahem polymerních složek na úkor rozpouštědla, což lze vysvětlit snižujícím se stupněm disociace a sníženým obsahem mikroskopické kapalně fáze (PC). Nejvyšší vodivosti $2,2 \cdot 10^{-6} \text{ S cm}^{-1}$ bylo dosaženo pro složení poly(MA–EOEMA)–PC 15:15:70 mol.%.

Obdobné výsledky byly zjištěny i u polymerních elektrolytů poly(MA–EGMEMA)–PC. Vzhledem ke struktuře EGMEMA, resp. vzhledem k délce jeho řetězců, je možné připravit vzorky s jeho nižším obsahem. Tak u vzorku 20:5:75 mol.% byla zjištěna vodivost $2,1 \cdot 10^{-6} \text{ S cm}^{-1}$, což je hodnota blízká výsledkům polymerních elektrolytů s EOEMA. Tabulka I ukazuje přehled elektrolytů s nejvyšší dosaženou vodivostí při laboratorní teplotě.

V tab. I jsou rovněž uvedeny nejvyšší vodivosti polymerních elektrolytů poly(LiMA–EOEMA)–DMF a poly(LiMA–EGMEMA)–DMF. Lze konstatovat, že vodivost elektrolytů s Li^+ ionty je o řád (poly(LiMA–EOEMA)–DMF 8:17:75 mol.%) až o dva řády (poly(LiMA–EGMEMA)–DMF 10:5:85 mol.%) vyšší ve srovnání s nejlepšími z elektrolytů s H^+ ionty.

Přítomná hodnota vodivosti $1,9 \cdot 10^{-4} \text{ S cm}^{-1}$ (poly(LiMA–EGMEMA)–DMF 10:5:85) je blízká vodivostem nalezeným u klasických dvou-iontových gelových elektrolytů⁹ (např. LiClO_4 –poly(EOEMA)–PC $2,5 \cdot 10^{-4} \text{ S cm}^{-1}$). Vyšší vodivost (zhruba 3,5 \times) elektrolytů poly(LiMA–EOEMA) oproti elektrolytům poly(LiMA–EGMEMA) je možno vysvětlit vyšším obsahem LiMA a zároveň vyšším obsahem aprotického rozpouštědla v kopolymeru. Oba tyto faktory podporují iontovou vodivost. Složení kopolymerů obsahujících EOEMA je limitováno požadovanými mechanickými vlastnostmi.

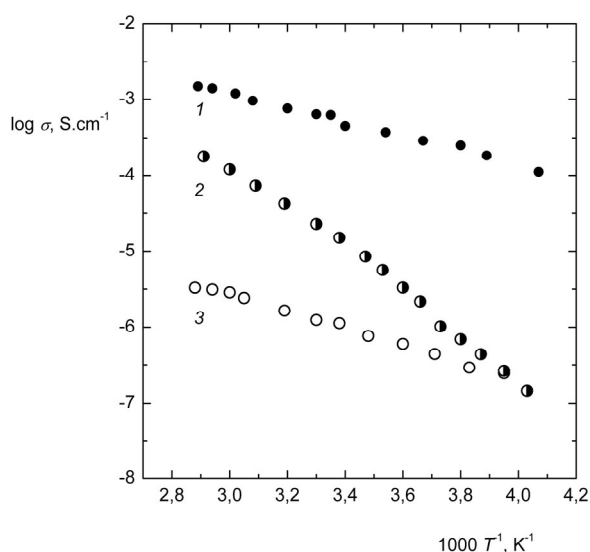
Vzhledem k podmínkám předpokládaného praktického použití gelových elektrolytů byla sledována závislost vodivosti na teplotě v rozmezí –25 až 70 °C. Dosud studované aprotické elektrolyty, obsahující buď anorganické chloristany (LiClO_4 , NaClO_4 , $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$ apod.)^{8–10,14} nebo kyselinu fosforečnou¹⁸, vykazují značnou závislost iontové vodivosti na teplotě (vodivost roste s rostoucí teplotou). Ke znázornění závislosti se používá Arrheniův graf – závislost dekadického logaritmu vodivosti (event. odporu) na reciproké termodynamické teplotě.

Obr. 4 ukazuje závislost vodivosti na teplotě dvou elektrolytů s kovalentně vázanými anionty poly(MA–EGMEMA)–PC, poly(LiMA–EGMEMA)–DMF a pro srovnání bi-iontový elektrolyt H_3PO_4 –poly(EOEMA)–PC. Závislost je u těchto elektrolytů přibližně lineární a lze ji vyjádřit Arrheniovou rovnicí v logaritmické formě:

$$\log_{10}(\sigma) = A / T + B \quad (1)$$

V exponenciální formě se běžně používá pro vyjádření závislosti vodivosti na teplotě a aktivační energii vodivosti:

$$\sigma = \exp(-E_A / R T) \quad (2)$$



Obr. 4. Arrheniův graf závislosti specifické vodivosti na teplotě (–25 až 75 °C) pro elektrolyty s kovalentně vázaným aniontem poly(MA–EGMEMA)–PC (3; složení 20:5:75 mol.%) a poly(LiMA–EGMEMA)–DMF (1; složení 10:5:85 mol.%) ve srovnání s elektrolytem H₃PO₄–poly(EOEMA)–PC (2; složení 42:34:24 mol.%)

Z rovnic (1) a (2) vyplývá vztah parametru A a aktivační energie vodivosti E_A :

$$E_A = -2,303 A R \quad (3)$$

Hodnota E_A odpovídá směrnici závislosti vodivosti na teplotě.

V celém rozsahu teplot je elektrolyt s LiMA výrazně vodivější než elektrolyt s MA. S klesající teplotou vodivost klesá v důsledku snižující se pohyblivosti iontů, poklesu jejich disociace a také zvyšování viskozity mikroskopické kapalné fáze. Tento pokles se snižující se teplotou však není příliš velký a především u polymerního elektrolytu s LiMA je vodivost i při –25 °C poměrně vysoká, více než 0,1 mS cm⁻¹, což je běžně udávaná minimální hodnota nezbytná např. pro funkci elektrolytu v lithno-iontových bateriích^{1,3}.

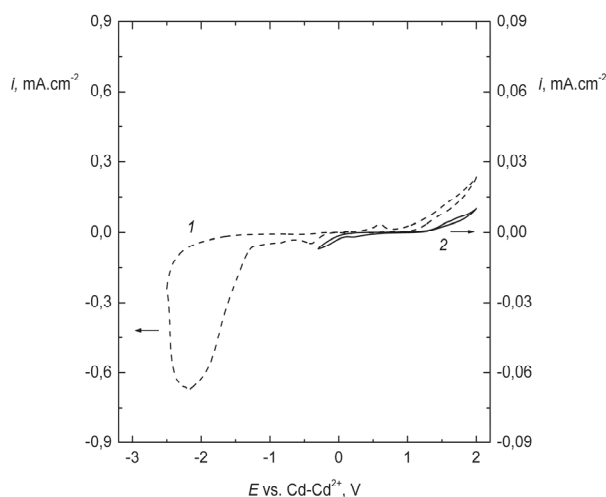
Hodnoty aktivační energie jsou u obou kopolymerů obdobné, 17,7 kJ mol⁻¹ pro kopolymer s obsahem LiMA, resp. 21,3 kJ mol⁻¹ pro kopolymer s MA. Jak je z obr. 4 patrné, chování dvou-iontového elektrolytu s kyselinou fosforečnou je odlišné. Závislost vodivosti na teplotě je výrazně vyšší, čemuž odpovídá také vyšší hodnota aktivační energie 40,2 kJ mol⁻¹ (cit.¹⁸). Obdobné vyšší hodnoty aktivačních energií byly zjištěny u dalších gelových elektrolytů s anorganickými solemi.

Voltametrická měření

Spolu s dostatečnou iontovou vodivostí je druhým základním požadavkem kladeným na polymerní elektrolyty jejich vysoká elektrochemická stabilita. V současnosti

používané kapalné i polymerní elektrolyty vykazují dostupné potenciálové okno, tj. rozsah potenciálů, kdy probíhají pouze nefaradaické procesy (nabíjení elektrické dvojvrstvy), přibližně 2–5,1 V v závislosti na materiálu elektrody. Je obecně známo, že žádné rozpouštědlo není termodynamicky stálé vůči lithiu ani ve styku s lithiovanými grafitovými anodami¹⁹, tj. při potenciálech blízkých 0 V vs. Li/Li⁺. Dříve^{20–22} již byly uvedeny příklady použití methakrylátů v lithno-iontových bateriích a i naše publikované výsledky^{9,10} ukázaly, že tyto polymery jsou elektrochemicky vysoce stabilní. Obr. 5 ukazuje voltametrické křivky naměřené u vybraných elektrolytů s kovalentně vázaným aniontem na zlaté elektrodě. U elektrolytu s kyselinou methakrylovou bylo nalezeno potenciálové okno v rozmezí 1,75–2 V, kdy limitujícím procesem je redukce H⁺ iontu při potenciálech 0–0,3 V vs. Cd/Cd²⁺, což odpovídá i výsledkům zjištěným u aprotických kapalných i polymerních elektrolytů s kyselinou fosforečnou¹⁸. U elektrolytu s LiMA je dostupné potenciálové okno širší vzhledem k vyšší stabilitě Li⁺ při nízkých potenciálech. V oblasti potenciálů –1,5 až –2,5 V vs. Cd/Cd²⁺ (0,1 až 1,2 V vs. Li/Li⁺) se redukuje rozpouštědlo a na povrchu elektrody vzniká homogenní vrstva organických a anorganických látek vzniklých rozkladem elektrolytu (obdobně jako u grafitové elektrody lithno-iontové baterie). Vzhledem k nižší iontové vodivosti u elektrolytů s kyselinou methakrylovou jsou i proudové hustoty nižší (viz obr. 5).

V anodické oblasti se oba elektrolyty chovají obdobně, neboť obě aprotická rozpouštědla (PC i DMF) podléhají oxidaci při přibližně stejných potenciálech (nad 1,8 až 2 V vs. Cd/Cd²⁺).



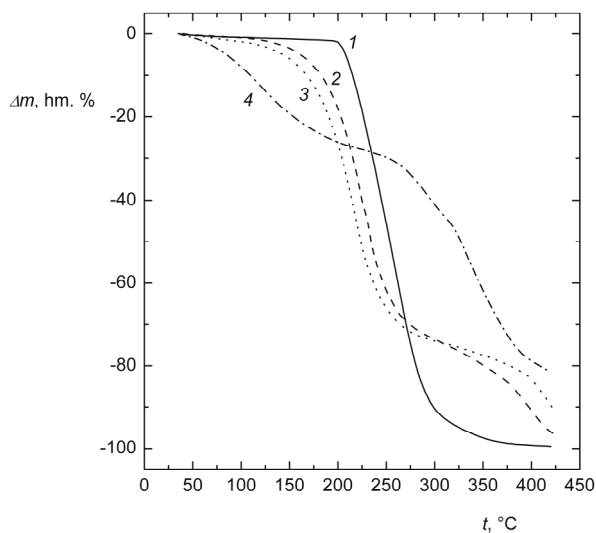
Obr. 5. Cyklické voltamogramy poly(LiMA–EGMEMA)–DMF (1; složení 10:5:85 mol.%) a poly(MA–EGMEMA)–PC (2; složení 20:5:75 mol.%) elektrolytů (pracovní elektroda zlato, pomocná elektroda skelný uhlík, referenční elektroda PMMA–Cd–Cd²⁺; rychlost polarizace 1 mV s⁻¹)

Termogravimetrická analýza

Z aplikačního pohledu je vedle elektrochemické a chemické stability spolu s přijatelnou iontovou vodivostí dalším klíčovým parametrem teplotní stabilita elektrolytů, zvláště při předpokládané aplikaci H^+ elektrolytů v palivových článcích pracujících při vyšších teplotách (nad 100 °C). Obr. 6 znázorňuje záznam termogravimetrické analýzy (TGA) v rozsahu teplot 30–420 °C kopolymerů poly(MA–EOEMA) (5:95), poly(MA–EOEMA)–PC (15:15:70), poly(MA–EGMEMA)–PC (20:5:75) a poly(LiMA–EOEMA)–DMF (8:17:75 mol.%). Jde tedy o kopolymery, u kterých byla při předchozím elektrochemickém studiu zjištěna nejvyšší iontová vodivost.

Polymerní elektrolyt poly(MA–EOEMA) vykazuje nejvyšší teplotní stabilitu, kdy během zahřívání byl zjištěn hmotnostní úbytek 1,5 hm.% při teplotě do 185 °C. Přídavkem PC ubývá hmotnost již nad teplotami 105–115 °C, což odpovídá částečnému odpařování PC, byť je tenze par PC velmi nízká a teplota varu značně vysoká ($p_{PC} = 130$ Pa při 50 °C; $t_v = 240$ °C při 101,3 kPa). DMF je rozpouštědlo s vyšší tenzí par, a proto se zřetelně vypařuje již při teplotách nad 70 °C. Elektrolyty s DMF nejsou proto vhodné pro aplikaci při vyšších teplotách.

Z literatury²² je známo, že methakryláty se rozkládají při dvou exotermických procesech. Nejprve se rozkládají koncové skupiny polymerních řetězců (cca 240–280 °C) a při teplotách nad 310 °C vlastní monomerní jednotky. Srovnáním našich dosavadních výsledků lze druhý proces (celková degradace přítomných polymerů) posunout až na teploty nad 350 °C. Tento proces, resp. teplotu, při které rozklad probíhá, ovlivňuje především další složka



Obr. 6. Křivky termogravimetrické analýzy elektrolytů poly(MA–EOEMA) (1), poly(MA–EOEMA)–PC (2), poly(MA–EGMEMA)–PC (3) a poly(LiMA–EOEMA)–DMF (4). Experimentální podmínky: teplotní gradient 5 °C min⁻¹, teplota 30 až 380 °C; vzduch

v přítomném elektrolytu (anorganické chloristany, kyselina fosforečná, iontové kapaliny apod.).

Závěr

V práci jsou popsány nové polymerní elektrolyty s kovalentně vázanými anionty, které vykazují čistě kationtovou vodivost díky přítomnosti iontů H^+ nebo Li^+ . Elektrolyty byly připraveny přímou, radikálovou polymerizací výchozí homogenní kapalné směsi iniciovanou UV světlem. Tato metoda eliminuje dříve používaný prekurzor Superakryl® (cit.^{8,14}) a proti metodě lití odpadá zdlouhavé rozpouštění polymeru. Významnou výhodou je též možnost přípravy elektrolytu *in situ*, tj. v přímém kontaktu s elektrodou obsahující katalyzátor u palivového článku nebo s elektroaktivní hmotou katody či anody lithno-iontové baterie. Neposlední výhodou je možnost přípravy elektrolytu v ochranné atmosféře při minimální kontaminaci kyslíkem a vodou.

Pro MA a LiMA byly nalezeny jako nejvhodnější kopolymerující složky EOEMA a EGMEMA. U těchto kopolymerů bylo optimalizováno složení tak, aby elektrolyty vykazovaly dobré mechanické vlastnosti a zároveň bylo dosaženo nejvyšší iontové vodivosti. Vzhledem k nízké disociaci H^+ iontu jsou elektrolyty s MA poměrně málo vodivé (do $2,2 \cdot 10^{-6}$ S cm⁻¹ při 20 °C). U elektrolytů s LiMA byla zjištěna velmi dobrá vodivost srovnatelná se současně používanými gelovými elektrolyty (10^{-4} až 10^{-3} S cm⁻¹) a především nízká závislost vodivosti na teplotě. Tento výsledek je významný především pro praktické aplikace v lithno-iontových bateriích, kde dosud používané elektrolyty omezuje značná snaha Li^+ iontů asociovat a tím snižovat iontovou vodivost při teplotách pod 0 °C.

Vzhledem k požadavkům na vyšší bezpečnost elektrolytů a vzhledem ke snaze připravit elektrolyty odolnější k vyšším teplotám bude výzkum pokračovat použitím iontových kapalin. Zde uplatní iontové kapaliny jak svou výbornou teplotní stabilitu, tak především vysokou iontovou vodivost a vysokou polaritu.

Tato práce vznikla za podpory Akademie věd ČR (AV0Z40320502), Grantové agentury AV ČR (KJB400320701), Grantové agentury ČR (104/06/1471) a Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR (LC523).

Seznam zkratk

DMF	dimethylformamid
EGDMA	ethylenglykol-dimethakrylát
EGMEMA	ethylenglykolmethylether-methakrylát
EOEMA	2-ethoxyethyl-methakrylát
HexadiMA	hexan-1,6-diol-dimethakrylát
LiMA	lithium-methakrylát
MA	kyselina methakrylová
MMA	methyl-methakrylát
PEO	poly(ethylenoxid)
PC	propylen-karbonát

LITERATURA

1. Nazri G. A., Pistoia G. (ed.): *Lithium Batteries – Science and Technology*. Kluwer Academic Publishers, Boston 2004.
2. Egdins B. R.: *Chemical Sensors and Biosensors*. Wiley, New York 2002.
3. Gellings P. J., Bouwmeester H. J. M. (ed.): *The CRC Handbook of Solid State Electrochemistry*. CRC Press, Boca Raton 1997.
4. Song J. Y., Wang Y. Y., Wan C. C.: *J. Power Sources* 77, 183 (1999).
5. Fenton D. E., Parker J. M., Wright P. V.: *Polymer* 14, 589 (1973).
6. Armand M. B.: *Solid State Ionics* 9–10, 745 (1983).
7. Hoodgers G., Hoodgers H., v knize: *Fuel Cell Technology Handbook*. kap. 2 a 4. CRC Press, Boca Raton 2003.
8. Reiter J., Krejza O., Sedlaříková M.: *Sol. Energy Mater. Sol. Cells* 93, 249 (2009).
9. Reiter J., Michálek J., Vondrák J., Chmelíková D., Příkladný M., Mička Z.: *J. Power Sources* 158, 509 (2006).
10. Reiter J.: *Ph.D. Disertační práce*. Univerzita Karlova v Praze, 2006.
11. Bannister D. J., Davies G. R., Ward I. M.: *Polymer* 25, 1291 (1984).
12. Ohno H., Ito Y.: *Polym. Adv. Tech.* 1, 335 (1990).
13. Ohno H., Yamazaki H.: *Solid State Ionics* 59, 217 (1993).
14. Zhang S. S., Wan G. X.: *J. Appl. Polym. Sci.* 48, 405 (1993).
15. Vondrák J., Klápště B.: nepublikované výsledky.
16. Reiter J., Vondrák J., Mička Z.: *Solid State Ionics* 177, 3501 (2007).
17. Caillon-Caravanier M., Claude-Montigny B., Lemordant D., Bossier G.: *Solid State Ionics* 149, 275 (2002).
18. Reiter J., Velická J., Míka M.: *Electrochim. Acta* 53, 7769 (2008).
19. Xu K.: *Chem. Rev.* 104, 4303 (2004).
20. Kim D. W.: *J. Power Sources* 87, 78 (2000).
21. Tatsuma T., Taguchi M., Oyama N.: *Electrochim. Acta* 46, 1201 (2001).
22. Kim H. S., Shin J. H., Moon S. I., Yun M. S.: *J. Power Sources* 482, 119 (2003).

J. Reiter^a, J. Michálek^{b,c}, M. Příkladný^{b,c}, D. Chmelíková^b, and J. Širc^{b,c} (^a*Institute of Inorganic Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Řež near Prague*, ^b*Institute of Macromolecular Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*, ^c*Centre for Cell Therapy and Tissue Repair, Charles University, Prague, Czech Republic*): **Li⁺ and H⁺ Conducting Polyelectrolytes with Covalently Bonded Anions**

New single-ion conducting methacrylate-based polyelectrolytes were prepared by radical copolymerization of methacrylic acid (MA) or lithium methacrylate (LiMA), 2-ethoxyethyl methacrylate (EOEMA) and 2-methoxyethyl methacrylate (EGMEMA) as purely cation-conducting (Li⁺ or H⁺) polyelectrolytes with covalently bonded carboxylic groups. For conductivity improvement, a series of polyelectrolytes with an embedded aprotic solvent, propylene carbonate (PC) or dimethylformamide (DMF) were prepared. After optimisation of the polyelectrolyte composition, the highest conductivity values were found for poly(MA–EOEMA)–PC ($2.2 \cdot 10^{-6} \text{ S cm}^{-1}$) and poly(LiMA–EGMEMA)–DMF ($1.9 \cdot 10^{-4} \text{ S cm}^{-1}$). The polyelectrolytes were also characterized by voltammetry and thermogravimetry. The accessible potential window on gold electrode is ca. 1.75–2 V for H⁺ polyelectrolytes and over 3.5 V for Li⁺ polyelectrolytes. The polyelectrolytes without aprotic solvents are stable up to 185 °C and those containing the solvents up to 105–115 °C.

VYUŽITÍ INTEGROVANÉHO OBVODU PRO STŘEDOVLNNÉ RADIOVÉ PŘIJÍMAČE V BEZKONTAKNÍM VODIVOSTNÍM DETEKTORU PRO DETEKCI LÁTEK V ROZTOKU

FRANTIŠEK OPEKAR

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, UNESCO Laboratoř elektrochemie životního prostředí, Albertov 2030, 128 40 Praha 2
opekar@natur.cuni.cz

Došlo 6.5.08, přijato 26.6.08.

Klíčová slova: bezkontaktní vodivostní detektor, integrovaný obvod TDA 1072A, detekce v toku kapaliny

Úvod

Od roku 1998, kdy byly publikovány první práce o novém způsobu bezkontaktní vodivostní detekce v elektromigračních metodách^{1,2}, prochází tato metoda intenzivním vývojem z hlediska instrumentálního i aplikačního. Kromě nejčastějšího použití v kapilární a čipové elektroforóze, viz např. přehledné články^{3,4}, využívá se bezkontaktní vodivostní detekce i v jiných průtokových metodách, např. v kapalinové chromatografii⁵ a průtokové injekční analýze⁶. Jedním z důvodů jejího intenzivního vývoje a rychlého praktického využití je skutečnost, že používané relativně nízké pracovní frekvence, desítky až stovky kHz, umožňují snadnou konstrukci potřebné instrumentace z běžně dostupných komponent přímo v analytických laboratořích i bez pomoci elektronika-specialisty.

Princip detekce je prostý. Na vnější stěně trubice, kterou prochází analyzovaný roztok, jsou v určité vzdálenosti od sebe umístěny dvě tubulární elektrody. Na jednu z nich, vstupní elektrodu, je přiváděno střídavé napětí, zpravidla sinusového průběhu. Střídavý elektrický proud prochází stěnou trubice do roztoku, kde je jeho velikost ovlivňována vodivostí roztoku, a poté prochází stěnou k druhé elektrodě, snímací, která je spojena s měřidlem proudu. Elektrody nejsou v přímém kontaktu s roztokem, takže jejich vlastnosti nemohou být interakcí s roztokem měněny. Elektrický proud je snímán např. voltmetrem jako úbytek napětí na konstantním rezistoru nebo, a to častěji, operačním zesilovačem zapojeným jako proudový sledovač. Střídavý signál je dále usměrněn, zesílen a registrován.

Jak plyne z výše uvedeného, pracovní frekvence v těchto detektorech jsou obdobné těm, které jsou využívány v amplitudově modulovaném (AM) rozhlasovém vysílání. V této práci je ukázáno, že ke zpracování střídavého

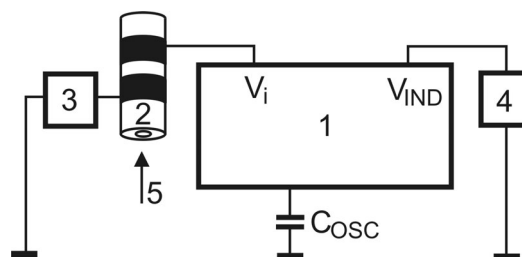
signálu ze snímací elektrody je proto možno použít integrovaného obvodu používaného v AM radiových přijímačích. Testován byl obvod pro středovlnný přijímač, typ TDA 1072A, firmy Philips Semiconductors. Několikastupňová elektronika – snímání proudu, usměrnění a zesílení, byla tak nahrazena jediným integrovaným obvodem, speciálně navrženým pro zpracování střídavých signálů potřebné frekvence.

Experimentální část

Schéma detektoru je na obr. 1. Jádrem elektroniky (1) je integrovaný obvod TDA 1072A, zapojený podle doporučení výrobce⁷. Na vstup obvodu, V_i , je místo antény připojena snímací elektroda bezkontaktní detekční cely (2). Na vstupní elektrodu je přiváděno střídavé napětí sinusového průběhu z funkčního generátoru (3); pro testování detektoru byl použit generátor GFG-3015 (GW Instek, Taiwan). Registrován byl signál na výstupu integrovaného obvodu, V_{IND} , který je v radiovém přijímači využíván jako indikátor vyladění (indikátor síly pole). Jde o stejnosměrný signál, jehož velikost se mění s amplitudou přijímaného signálu, tj. v tomto případě se změnou vodivosti roztoku v detekční cele. Signál byl měřen běžným digitálním voltmetrem nebo registrován počítačem (4). Obvod byl testován pro několik frekvencí střídavého signálu, pro něž byl naladěn změnou kondenzátoru C_{OSC} ; tímto kondenzátorem se radiový obvod ladí pro příjem různých stanic.

Bezkontaktní detekční cely (2) byla trubička z polytetrafluoroethylenu o vnějším průměru 1,6 mm (1/16") a vnitřním průměru 0,8 mm (0,031") (Supelco, USA). Elektrody byly z nerezových trubiček (kousků injekční jehly) o délce 4,5 mm, těsně navlečených na trubičku. Mezera mezi nimi byla 1,5 mm.

Pracovní postup je jednoduchý. Testovaný roztok je manuálně nasát do detekční cely (např. použitím injekční stříkačky) a voltmetrem je změřeno odpovídající výstupní napětí V_{IND} . Je rovněž možno určitý objem roztoku vzorku dávkovat do proudu deionizované vody dávkovacím venti-



Obr. 1. Schéma bezkontaktního vodivostního detektoru; 1 – elektronická část s integrovaným obvodem TDA 1072A (označení V_i , V_{IND} a C_{OSC} je stejné jako v dokumentaci k obvodu⁷), 2 – detekční cely, 3 – generátor sinusového napětí, 4 – voltmetr nebo registrační zařízení, 5 – vstup detegovaného roztoku

lem a registrovat závislost výstupního napětí na čase. V tomto případě byl průtok vody, 0,15 ml za minutu, zajišťován piezoelektrickou mikropumpou mp5 (Bartels mikro-technik, Německo) a vzorek byl dávkován standardním šesticestným ventilem (Ecom, ČR) vybaveným dávkovací smyčkou o objemu 30 μl .

Využitelnost obvodu TDA 1072A pro bezkontaktní vodivostní detekci byla testována roztoky KCl a K_2SO_4 (Merck, Německo) v deionizované vodě (Milli-Q Plus, Millipore, USA).

Výsledky a diskuse

Optimalizace vstupních parametrů

Výstupní signál bezkontaktních vodivostních detektorů je obecně výrazně závislý na hodnotě použité vstupní frekvence. V případě testovaného detektoru je závislost výstupního napětí, V_{IND} , na vstupní frekvenci pro deionizovanou vodu a roztok KCl v detekční cele na obr. 2, křivky *a* a *b*. Maximum na křivkách je registrováno při hodnotě vstupní frekvence, na kterou je obvod TDA 1072A kondenzátorem C_{OSC} právě naladěn (maxima na křivce je v radiovém přijímači využíváno k detekci správného vyladění určité stanice). Pro účely vodivostní detekce je však výstupní napětí v maximu nepoužitelné, protože jeho hodnota je v obou prostředích velmi málo rozdílná. Vhodnou frekvenci pro detekční účely lze zjistit z rozdílu výstupních napětí, $\Delta V_{\text{IND}} = V_{\text{IND}}(\text{KCl}) - V_{\text{IND}}(\text{H}_2\text{O})$, křivka *c* na obr. 2. Z ní je zřejmé, že pro použitý kondenzátor, $C_{\text{OSC}} =$

27 pF, je optimální vstupní frekvence 1100 nebo 1450 kHz; pro další měření byla používána frekvence 1100 kHz.

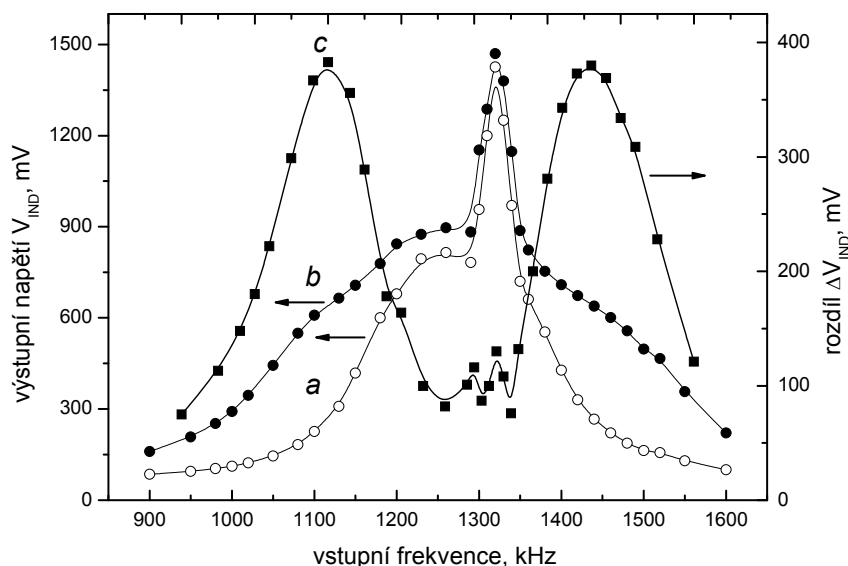
Pro tuto frekvenci byla hledána vhodná amplituda vstupního střídavého napětí. Jak je vidět z obr. 3, amplituda, při níž je registrován největší rozdíl ΔV_{IND} , závisí (při konstantní frekvenci) na vodivosti testovaného roztoku; s klesající vodivostí se posunuje k vyšším hodnotám. Pro další měření byla používána amplituda 0,25 V (mezivrcholová hodnota, pp), protože při ní je rozdíl výstupních napětí na odlišně vodivé roztoky největší.

Závislost odezvy na vodivosti roztoku

Za optimalizovaných podmínek, tj. při vstupní frekvenci 1100 kHz a amplitudě 0,25 V (pp) byla proměřena závislost výstupního napětí V_{IND} na měrné vodivosti vodných roztoků KCl a K_2SO_4 z intervalu koncentrací 10^{-4} až 10^{-2} mol l^{-1} . Jak je vidět z obr. 4, obě závislosti jsou prakticky stejné. Experimentálními body lze proložit exponenciální regresní křivku, z jejíž rovnice je možno určit měrnou vodivost roztoku, κ , ze změřeného výstupního napětí; příslušné parametry regresní rovnice jsou v tab. I:

$$\kappa[\mu\text{S cm}^{-1}] = -a \ln \frac{V_{\text{IND}}[\text{mV}] - b}{c} \quad (1)$$

Shodnost kalibračních závislostí pro oba elektrolyty je zřejmá i z porovnání parametrů regresní rovnice, jsou v mezích intervalu spolehlivosti shodné. Z toho lze sou-



Obr. 2. Závislost výstupního napětí V_{IND} na frekvenci: pro vodu (*a*), roztok 0,01 M-KCl (*b*) a frekvenční závislost rozdílu obou výstupních napětí ΔV_{IND} (*c*)

Tabulka I

Parametry kalibrační regresní rovnice (I) určené pro roztoky KCl a K_2SO_4 z intervalu koncentrací 10^{-4} až 10^{-2} mol l^{-1}

Parametr ^a	KCl	K_2SO_4
a [$\mu S\ cm^{-1}$]	$183,7 \pm 28,7$	$180,8 \pm 17,5$
b [mV]	$620,0 \pm 18,2$	$618,8 \pm 11,0$
c [mV]	$-440,8 \pm 24,5$	$-454,6 \pm 16,2$
r^2 ^b	0,988	0,996

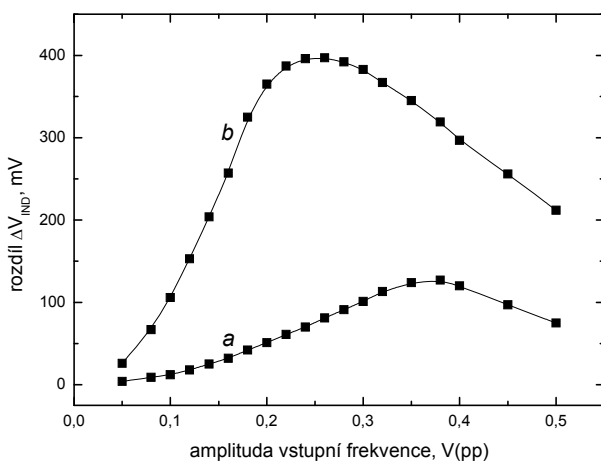
^a Podmínky: vstupní frekvence 1100 kHz, amplituda 0,25 V(pp). ^b V poslední řádky je koeficient determinace příslušné regrese

dit, že měřené výstupní napětí je funkcí především vodivosti roztoku a případný vliv druhu elektrolytu je zanedbatelný.

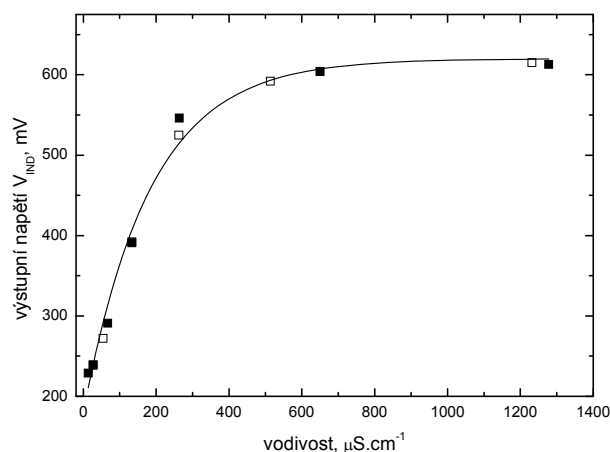
Reprodukovatelnost výstupního napětí byla sledována opakovaným měřením kalibrační závislosti v rozmezí jednoho týdne. Bylo zjištěno, že pro nízké koncentrace, do $5 \cdot 10^{-4}$ M-KCl, je ze sedmi měření relativní směrodatná odchylka výstupního napětí pod 2 %, pro vyšší koncentrace pod 1 %.

Vodivostní detekce v toku kapaliny

Testovaný detektor lze použít i pro vodivostní detekci v proudu nosné kapaliny. Na obr. 5b jsou časové závislosti výstupního napětí při nadávkování 30 μl vzorku několika druhů nesyčených balených vod běžně dostupných v obchodní síti a vody vodovodní do proudu deionizované vody o průtokové rychlosti 0,15 ml min^{-1} . Pro srovnání



Obr. 3. Závislost rozdílu výstupních napětí ΔV_{IND} na amplitudě vstupního střídavého napětí o frekvenci 1100 kHz pro $5 \cdot 10^{-4}$ M-KCl (a) a 0,01 M-KCl (b)



Obr. 4. Závislost výstupního napětí V_{IND} na vodivosti roztoků KCl (plně body) a K_2SO_4 (prázdné body)

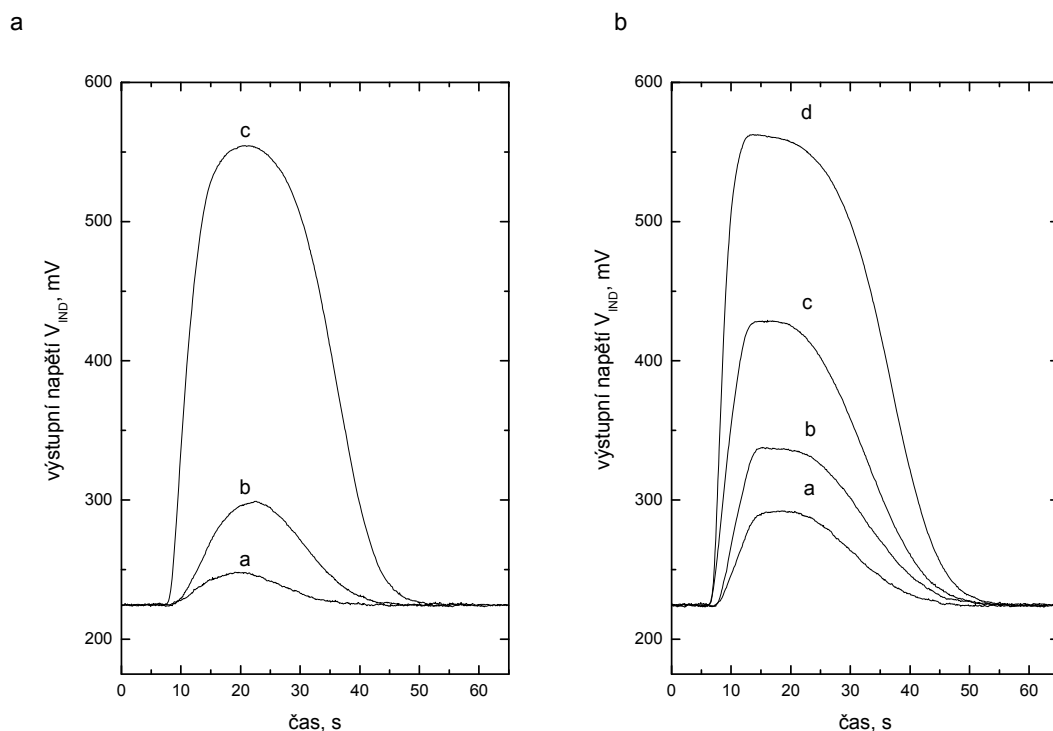
jsou na obr. 5a tytéž závislosti pro roztoky KCl o známé vodivosti. Detektor vykazuje velmi dobrou stabilitu základní linie a amplitudu šumu asi 1 mV.

Závěr

Z předložených výsledků je zřejmé, že bezkontaktní měření vodivosti roztoků může být založeno na netradičním přístupu k řešení elektronické části detektoru s využitím integrovaného obvodu určeného pro zcela jiné aplikace. Řešení elektronické části detektoru je s použitím integrovaného obvodu pro rádiové přijímače jednoduché, protože pro zpracování střídavých signálů o potřebné vysoké frekvenci a pro jejich převod na snadno registrovatelné stejnosměrné napětí je tento obvod určen. Zdrojem vstupního střídavého signálu může být funkční generátor tvořený dalším integrovaným obvodem, např. MAX038 firmy Maxim, čímž se elektronika detektoru dále zjednoduší a detektor pak může pracovat i s bateriovým napájením.

Pracovní parametry detektoru s obvodem TDA 1072A jsou velice stabilní, což se projevuje velmi dobrou reprodukovatelností měřeného napětí a nízkým šumem. Změnou „ladícího“ kondenzátoru, C_{OSC} , (byly testovány hodnoty 2,7, 27 a 270 pF) dochází ke změně hodnoty optimální frekvence vstupního střídavého napětí, ale základní parametry kalibračních závislostí se mění zanedbatelně. Vzhledem k charakteru kalibrační závislosti je detektor vhodný pro stanovování vodivosti v oboru asi 25 až 700 $\mu S \cdot cm^{-1}$, což odpovídá roztokům asi $2 \cdot 10^{-4}$ až $5 \cdot 10^{-3}$ M-KCl. Jak bylo ukázáno, vhodnou aplikační oblastí může být stanovování vodivosti (obsahu solí) v pitných vodách.

Použitý rádiový integrovaný obvod umožňuje též pracovat s modulovaným vstupním střídavým napětím. V tomto případě je výstupní napětí odebráno na výstupu, z něž je v rádiových přijímačích veden demodulovaný



Obr. 5. Závislost výstupního napětí V_{IND} na čase při nadávkování $30 \mu\text{l}$ vzorku do proudu deionizované vody; a – roztoky KCl: $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ ($76 \mu\text{S cm}^{-1}$) (a), $10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$ ($147 \mu\text{S cm}^{-1}$) (b), $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$ ($708 \mu\text{S cm}^{-1}$) (c). b – vzorky pitné vody: balená Dobrá voda (a), balená voda Deep (b), vodovodní voda (c) a minerální voda Mattoni (d)

signál k zesilovači a k reproduktoru. Výstupní napětí je však zapotřebí před registrací usměrnit a zesílit, což komplikuje elektronickou část detektoru.

Práce vznikla při řešení projektů podporovaných GA ČR, grant 203/07/0896, a MŠMT ČR, výzkumný záměr MSM0021620857.

LITERATURA

1. Zemann A. J., Schnell E., Volgger D., Bonn G. K.: *Anal. Chem.* 70, 563 (1998).
2. da Silva J. A. F., do Lago C. L.: *Anal. Chem.* 70, 4339 (1998).
3. Kubáň P., Hauser P. C.: *Electroanalysis* 96, 2009 (2004).
4. Kašička V., Šolínová V.: *J. Sep. Sci.* 29, 1743 (2006).
5. Kubáň P., Můri M. A., Hauser P. C.: *Analyst* 129, 82 (2004).
6. Hoherčáková Z., Opekar F.: *Anal. Chim. Acta* 551, 132 (2005).
7. <http://www.ortodoxism.ro/datasheets/philips/TDA1072A.pdf>, staženo dne 25. 4. 2008.

F. Opekar (*UNESCO Laboratory of Environmental Electrochemistry, Department of Analytical Chemistry, Charles University, Prague, Czech Republic*): **Utilization of Integrated AM Receiver Circuit in Contactless Conductivity Detector for Detections in Solution**

The integrated circuit TDA 1072A (Philips) was tested in signal processing in a contactless conductivity detector. The detection cell (consisting of two tubular electrodes placed on the outer wall of a PTFE tube) was connected between the sine-wave generator output and antenna input of the circuit. The analytical signal, a DC voltage, was taken from the output of a field intensity indicator. For the sine-wave input of the voltage frequency 1330 kHz and amplitude 0.25 V(pp), a nonlinear dependence of the signal on the solution conductivity was obtained in the range from ca. 25 to $700 \mu\text{S cm}^{-1}$, corresponding to the KCl concentration from $2 \cdot 10^{-4}$ to $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$. The relative standard deviation of the conductivity values was ca. 1 %. The detector was used for evaluation of drinking water.

VÝUKA CHEMIE

ŽIRAFÁ, aneb soutěž Život, RAdost, FAntazie

**HANA ČÍDLOVÁ, ZUZANA MOKRÁ
a BARBORA VALOVÁ**

*Katedra chemie Pedagogické fakulty Masarykovy univerzity, Poříčí 7, 603 00 Brno
cidlova@ped.muni.cz, 78058@mail.muni.cz,
128520@mail.muni.cz*

Došlo 30.3.09, přijato 24.6.09.

Klíčová slova: výuka, chemie, didaktika chemie, didaktický test, znalosti, srovnávací výzkum

Úvod

Na konci září 2008 proběhla v Brně v rámci akce „Podzimní hrátky s vědou a vědci“ také soutěž ŽIRAFÁ (Život, RAdost, FAntazie)¹. Tato soutěž byla určena žákům druhého stupně základních škol. Zúčastnili se jí především žáci škol brněnských, ale i žáci některých škol z blízkého okolí Brna (např. Blansko). Žáci postupně na deseti stanovištích řešili úkoly z oborů biologie, fyzika, zeměpis, chemie a zemědělství.

Z každého oboru byla připravena dvě stanoviště s úkoly. Soutěžní družstva (pětičlenná) si školy sestavily samy ve vlastním zájmu tak, aby soutěžící pokud možná co nejlépe pokryli všech pět soutěžních disciplín.

Na jednom z chemických stanovišť žáci pod dohledem pedagogů řešili praktické laboratorní úlohy, na druhém zpracovávali didaktický test vytvořený zajímavou motivační formou. Zadání praktické úlohy i testu si žáci losovali ze tří verzí.

Tento článek rozebírá výsledky získané na stanovišti s didaktickým testem, přičemž je srovnává s výsledky získanými dodatečně od středoškolských a vysokoškolských studentů, upozorňuje na problematiku partie učiva a zamýšlí se nad možnými způsoby, jak přispět ke zlepšení situace.

Experimentální část

Respondenti

Do srovnávacího výzkumu byly zapojeny 4 skupiny respondentů:

ZŠ: žáci 2. stupně základních škol a nižších ročníků víceletých gymnázií (s ohledem na to, že šlo o účastníky soutěže, byli vybráni žáci spíše starší a šikovnější) – celkem 210 žáků v 42 pětičlenných družstvech;

SŠ: studenti 3. a 4. ročníku středních škol (dvě čtyřletá gymnázia, jedna střední odborná škola – obor veterinární prevence) – celkem 58 studentů;

VŠ1: studenti tří českých vysokých škol (obory zaměřené na přípravu budoucích učitelů chemie na 2. stupni základních škol, čtyřletých gymnáziích a víceletých gymnáziích), celkem 102 studentů 1. ročníku bakalářského studia;

VŠ5: studenti tří českých vysokých škol (obory zaměřené na přípravu budoucích učitelů chemie na 2. stupni základních škol, čtyřletých gymnáziích a víceletých gymnáziích), 45 studentů navazujícího magisterského studia.

Provedení testování

Respondenti neměli o zaměření testových otázek dopředu žádné informace.

Test byl vypracován ve třech verzích, z nichž každá obsahovala celkem 10 otázek, doba řešení byla 10 minut. K dispozici respondentům byla periodická tabulka a kalkulačtor.

Žáci základních škol spolu směli komunikovat v předem dohodnutých pětičlenných skupinách, středoškoláci i vysokoškoláci pracovali zcela samostatně.

Forma testu

Každá ze tří verzí testu byla rozdělena na tři základní části. První část tvořila motivační doplňovačka (např. obr. 1), v druhé části byly teoretické otázky související s doplňovačkou. Třetí část byla obrázková a byla zaměřená na poznávání minerálů. Součástí zadání byla periodická tabulka se značkami chemických prvků, jejich českými



Obr. 1. Příklad formálního zpracování testových položek

názvy, protonovými čísly a molárními hmotnostmi. Odpovědi respondenti zapisovali do samostatných odpovědních archů. Přesné znění všech verzí testu je zveřejněno např. na webových stránkách katedry chemie PdF MU², část Chemické didaktické hry (kvízy a soutěže).

Obsah položek

S ohledem na prvotní cíl „testování“ (motivační, nikoli výzkumný) nemohly položky reprezentativním způsobem pokrývat učivo. Byly voleny tak, aby spadaly do určitého tématického okruhu a aby odpovědi počtem znaků vyhovovaly tvaru doplňovačky.

Po obsahové stránce bylo možné rozdělit otázky do následujících devíti skupin:

- 1. práce s periodickou tabulkou** (nalezení prvku v tabulce podle jeho protonového čísla, nalezení prvku v tabulce na základě znalosti skupiny a periody) – 6 položek,
- 2. chemické názvosloví** (oxidační číslo a názvoslovná zakončení kationtů kovů v oxidech a hydroxidech, vzorce základních anorganických kyselin a jejich solí; benzen, fenol, naftalen, aceton – vzorce a názvy) – 10 položek,
- 3. vybrané laboratorní metody** (destilace, filtrace, vysoušení, acidobazické indikátory) – 5 položek,
- 4. stavba atomu** (protony, neutrony, elektrony, prvek, nuklid) – 2 položky,
- 5. chemické reakce** (elektrolytická disociace HCl, vznik oxoniového kationtu, esterifikace) – 3 položky,
- 6. chemické výpočty** (výpočet molární hmotnosti látky na základě jejího chemického vzorce, výpočet hmotnostního zlomku prvku ve sloučenině) – 2 položky,
- 7. nerosty** (nejznámější alotropické modifikace uhlíku, přiřazení názvu minerálu a jeho chemického vzorce nebo zbarvení, rozpoznání nejznámějších anorganických krystalických látek – přiřazení mineralogických názvů a chemických vzorců z nabídky) – 12 položek,
- 8. chemie lidského těla** (koncentrace a význam HCl v žaludku) – 2 položky,
- 9. ostatní** (použití indiga, kovy a nekovy, cement, výskyt nejvýznamnějších biogenních prvků v živých soustavách – přiřazení dle nabídky) – 9 položek.

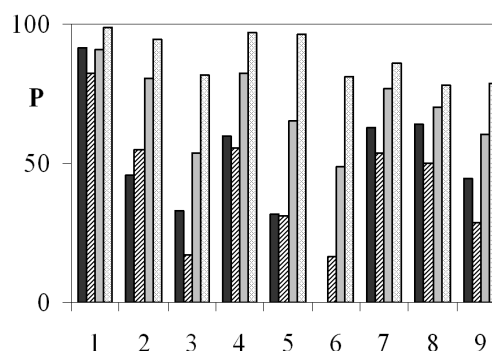
Skórování

Bodování testu v soutěži bylo předurčeno pravidly soutěže ŽIRAFa a je uvedeno na webových stránkách katedry chemie PdF MU², část Chemické didaktické hry (kvízy a soutěže).

Pro účely srovnávacího výzkumu diskutovaného v tomto článku bylo použito binární skórování. Hodnoceny byly i položky, které v původní soutěži bodovány nebyly (např. správné využití nápovědy k doplňovačce).

Výsledky a diskuse

Výsledky testování podle jednotlivých tématických



Obr. 2. Srovnání výsledků všech čtyř skupin respondentů v jednotlivých tématických okruzích; P = procentuální zastoupení správných odpovědí. Čísla na vodorovné ose jsou rovna pořadovým číslům tématických okruhů položek dle kapitoly Obsah položek: 1 = práce s periodickou tabulkou, 2 = chemické názvosloví, 3 = vybrané laboratorní metody, 4 = stavba atomu, 5 = chemické reakce, 6 = chemické výpočty, 7 = nerosty, 8 = chemie lidského těla, 9 = ostatní. Výplň sloupců (skupiny respondentů): černá = ZŠ, pruhovaná = SŠ, šedá = VŠ1, tečkovaná = VŠ5 (viz Respondenti)

oblastí včetně srovnání výsledků dosažených všemi čtyřmi skupinami respondentů ukazuje obr. 2.

Celkové srovnání skupin respondentů

Na obr. 2 je na první pohled zarážející skutečnost, že výsledky dosažené středoškoláky jsou ve většině případů horší než u žáků základní školy. Snad by se při odůvodnění tohoto zjištění dalo uvažovat kromě jiného i o vlivu obsahu učiva v kombinaci s motivací: mnozí žáci základních a pravděpodobně i středních škol se zřejmě chemii učí „převážně pro známku“. Protože testy byly vytvořeny tak, aby odpovídaly učivu základní školy, byli středoškoláci od tohoto učiva „dál“ a odpovídali proto hůře. Důvodem by teoreticky mohla být i opomíjená a přehlížená skutečnost, že výběr studentů pro středoškolské studium na základě jazykových a matematických znalostí a dovedností velmi znevýhodňuje žáky, kteří jsou nadaní pro studium jiných oborů (biologie, chemie, geografie, historie ...). Také mohlo mít vliv to, že základní školy do soutěže vybraly své nejlepší žáky, kteří navíc mohli spolupracovat v pětičlenné skupině, kdežto studenti středních a vysokých škol odpovídali jednotlivě. Podstatné zlepšení oproti žákům základní školy bylo patrné jen u chemických výpočtů. Tam zřejmě velkou roli hraje i vývoj schopnosti abstraktního myšlení respondentů, které se začíná rozvíjet teprve kolem 12. roku žáka. Na počátku vysokoškolského studia je rozvinutého formálního myšlení schopno jen cca 25 % studentů³.

Zajímavé je celkové srovnání skupin respondentů SŠ a VŠ1. Přestože po stránce obsahu probraného učiva by se tyto skupiny neměly významně lišit (test byl složen z učiva

8. a začátku 9. třídy základní školy; vysokoškoláci v prvním ročníku studia, přestože zaměřeni na studium chemie, v době administrace testu ještě neprošli prakticky žádným speciálním chemickým vzděláváním), dosáhla skupina VŠ1 podstatně lepších výsledků. Domníváme se, že to je způsobeno výběrem respondentů: na vysokou školu jsou přijímáni studenti nyní již většinou na základě „testu inteligence“ a dá se předpokládat, že alespoň část uchazečů skutečně má o obor zájem. Na skupinu VŠ1 tedy lze zjednodušeně nahlížet jako na vzorek šikovnějších a zainteresovanějších studentů vybraných ze skupiny SŠ.

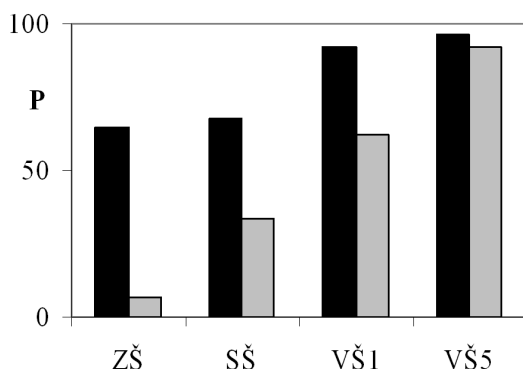
Rozbor vybraných skupin položek dle učiva

Charakterizace jednotlivých skupin položek je podaná v kapitole Obsah položek.

Z grafu (obr. 2) je zřejmé, že základní operace s periodickou tabulkou zvládá dobře většina respondentů. Na druhé straně je alarmující, že téměř 10 % vysokoškolských studentů učitelství chemie v prvním ročníku tyto základní a klíčové dovednosti neovládá (úspěšnost této skupiny byla prakticky stejná jako u žáků základní školy).

Pokud jde o výsledky v oblasti chemického názvosloví, výsledky sledují stupeň vzdělání žáků/studentů. Současně je z obr. 3 zřejmý stupeň ovládnutí chemického názvosloví dvou samostatně probíraných chemických disciplín (anorganická chemie, organická chemie). Žáci základní školy v době soutěže ještě názvosloví organické chemie neovládali téměř vůbec; v dalším studiu se znalost názvosloví v anorganické i organické chemii zlepšuje, přitom v organické chemii rychleji, takže na konci vysoké školy je prakticky dosaženo požadovaného efektu kvalitního zvládnutí obou částí názvosloví. Za zmínku stojí střední školy, kde názvosloví organické chemie na úrovni obsahu učiva 9. třídy základní školy⁴ bylo zvládnuto jen zhruba na 30 %.

Výsledek týkající se chemických reakcí je obdobný jako v části týkající se stavby atomu. Zdá se, jako by základní škola naučila žáky relativně mnoho z těchto oblastí



Obr. 3. Srovnání odpovědí na položky týkající se chemického názvosloví pro sledované 4 skupiny respondentů; P = procentuální zastoupení správných odpovědí. Výplň sloupců: černá = anorganická chemie, šedá = organická chemie

Tabulka I

Srovnání výsledků dosažených při řešení úkolů na chemické výpočty

Skupina ^a	Procenta správných odpovědí [%]				
	ZŠ	SŠ	VŠ1	VŠ3	VŠ5/ VŠ5a
Soutěž Žirafa	0	16,7	54,4	–	89,3
Jiný výzkum ⁵	0	24,7	–	61,9	78,3

^a Skupiny ZŠ, SŠ, VŠ1 a VŠ5 viz kapitola Respondenti; VŠ3 = studenti dvou českých vysokých škol (obory zaměřené na přípravu budoucích učitelů chemie na 2. stupni základních škol, čtyřletých gymnáziích a víceletých gymnáziích) – celkem 42 studentů 2. a 3. ročníku bakalářského studia; VŠ5a = skupina charakterizovaná stejně jako VŠ5, jde však o jiné konkrétní respondenty a jinou konkrétní testovou položku⁵ – 23 respondentů

a škola střední již znalost tohoto učiva nadále neprohlubovala. V oblastech Metody, Lidské tělo a Ostatní dokonce výsledky skupiny ZŠ byly podstatně lepší než skupiny SŠ.

V oblasti chemických výpočtů koresponduje zjištění (nulová úspěšnost u žáků základní školy a postupně rostoucí úspěšnost s postupujícím vzděláním, přičemž jednoduchý úkol vyžadující pouze znalosti na úrovni základní školy řeší vysokoškoláci na konci studia s úspěšností zdaleka nedosahující 100 %) s jinými výzkumnými výsledky (tab. I).

Podle autorek výsledky týkající se chemických výpočtů souvisejí se stupněm rozvinutí formálního myšlení, jak je diskutováno v kapitole Celkové srovnání skupin respondentů.

Trochu překvapením je nečekaně dobře vyřešená tématická oblast Nerosty u žáků základních škol a naopak malý vzestup úspěšnosti směrem ke studentům vysokých škol. Velkou úspěšnost žáků základních škol pravděpodobně lze odůvodnit konstrukcí položky: byla záměrně konstruovaná jako snadná, aby působila v soutěži jako motivační a povzbuzující prvek. U vysokoškoláků naopak nelze očekávat přílišné zvýšení úspěšnosti řešení, protože položka vyžaduje vysloveně pamětní reprodukci, která není cílem ani smyslem vzdělávání, a to navíc spíše z oblasti mineralogie než chemie.

Závěr

Práce srovnává výsledky žáků a studentů při řešení chemických úkolů konstruovaných pro začátek deváté třídy základní školy. Zastoupení učiva bylo rozhodujícím způsobem ovlivněno motivačním posláním soutěže. Respondentů bylo poměrně málo a jednotlivé skupiny se

lišily počtem respondentů. Výběr respondentů nebyl v rámci republiky reprezentativní a nebyl ani náhodný – byl omezen především ochotou škol spolupracovat. Možnost zobecnění výsledků na populaci je proto velmi omezená.

Přesto však lze říci, že výzkum potvrdil některá očekávatelná fakta (tendence ve stupni zvládnutí chemického názvosloví a chemických výpočtů, zejména nulové zvládnutí chemických výpočtů žáky základní školy). Dále se potvrdilo, že vhodně motivovaní žáci základních škol mohou mít podstatně lepší znalosti a lepší výsledky při testování než průměrní žáci středních škol.

Důležitým a smutným výsledkem výzkumu je skutečnost, že mnohé elementární úkoly, konstruované v souladu s učivem základní školy, zvládají téměř vystudovaní vysokoškolačtí-specialisté s úspěšností nižší než 80 %. Zjištěná fakta jsou v souladu s výsledky cca pětiletého výzkumu, jehož výsledky jsou publikovány v habilitační práci jedné z autorek⁵.

LITERATURA

1. *Podzimní hrátky s vědou a vědci aneb - ani věda není žádná věda* [online]. [cit. 2009-02-16]. Dostupné z World Wide Web: <http://www.bkc.cz/festivalvedy_prihlaska.php>.
2. *Katedra chemie : Pedagogická fakulta MU* [online]. [cit. 2009-02-16]. Dostupné z World Wide Web: <<http://www.ped.muni.cz/wchem/>>.
3. Bílek M.: *Psychogenetické aspekty didaktiky chemie*. 1. vyd. Gaudeamus, Hradec Králové 2001.
4. Beneš P., Pumpr V., Banýr J.: *Základy chemie 2 pro 2. stupeň základní školy, nižší ročníky víceletých gymnázií a střední školy*. 3. vyd., dotisk. Fortuna, Praha 2003.
5. Cídllová H.: *Habilitační práce*. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Praha 2006.

H. Cídllová, Z. Mokrá, and B. Valová (*Department of Chemistry, Faculty of Education, Masaryk University, Brno, Czech Republic*): **Pupil's Competition ŽIRAFÁ**

In September 2009, the pupil's competition "ŽIRAFÁ" took place in Brno. The competition was intended for pupils of at least 6th grade of primary schools. The pupils were dealing with the tasks from biology, chemistry, geography and agriculture. A chemistry standpoint involved a didactical test in a motivating form. The article compares the test results of primary school pupils with those of secondary school and university students. future teachers of chemistry.

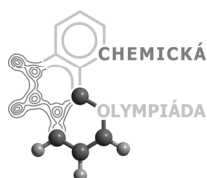
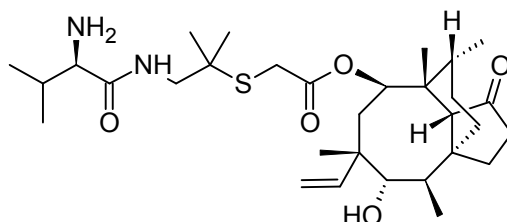


BULLETIN

ASOCIACE ČESKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ

Ročník 40

Číslo 4



Český komitét
ČKCH
pro chemii



ČESKÁ SPOLEČNOST CHEMICKÉHO INŽENÝRSTVÍ
CZECH SOCIETY OF CHEMICAL ENGINEERING



Obsah Chemické listy 2009, číslo 8 a 9

ČÍSLO 8/2009

ÚVODNÍK	635
ZAHRADA	
Sledování reakcí pomocí synchrotronového záření jako jedinečný zdroj přesných energetických údajů o reakcích v plynné fázi J. Roithová a D. Schröder	636
REFERÁTY	
<i>Enterobacter sakazakii</i> alias <i>Cronobacter sakazakii</i> – nová hrozba? K. Demnerová a J. Pazlarová	641
Přírodní drahé kameny a jejich využití ve šperkařství, architektuře a umění J. Jirásek, M. Vavro a J. Jiránek	647
Elektrochemické generování těžkých sloučenin pro potřeby spektrálních analytických metod V. Červený, P. Rychlovský, J. Hraníček a J. Šíma	652
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY	
On-line prekoncentrace na rozhraní elektrolytů o různém pH aneb krása kapilární elektroforézy J. Petr, V. Maier, J. Znaleziona, K. Vítková, V. Ranc a J. Ševčík	661
Stanovení hydroxylových a nitroxidových radikálů u deprese a hyperlipidémie elektronovou paramagnetickou rezonancí M. Zeman, P. Stopka, M. Vecka, A. Žák, A. Písařiková, R. Jiráček, B. Staňková, L. Vávrová, J. Kodydková, J. Křížová a J. Macášek	667
Separace některých lokálních anestetik kapilární zónovou elektroforézou za přítomnosti polyethylenglykolu P. Adamovský a Z. Stránský	672
Vývoj metodiky extrakce na tuhé fázi a HPLC-MS pro stanovení deoxyvalenolu v ječmeni a sladu A. Ježková, J. Karasová, V. Dohnal a I. Polišenská	679
CHEMICKÝ PRŮMYSL	
Zvyšování účinnosti odfenolování naftalenového oleje Q. Smejkal, M. Zgabaj a J. Obermajer	684
VÝUKA CHEMIE	
Jakými veličinami popsat reakční rychlost? K. Wichterle a J. Wichterlová	687
DISKUSE	689
RECENZE	691

ČÍSLO 9/2009

ÚVODNÍK	695
REFERÁTY	
Minulost kyseliny dusičné: voda, nebo duch? V. Karpenko	696
Degradácia fosfolipidov: tvorba nového zo starého M. Šimočková a P. Griač	704
Spojenie extrakcie s využitím teploty zákalu micelárnych roztokov s metódami atómovej spektrometrie na separáciu, prekoncentráciu a špeciáciu kovov I. Hagarová	712
Využití chemicky modifikovaných hořkých látek v pivovarství M. Karabín, T. Brányik, R. Kruliš, M. Dvořáková a P. Dostálek	721
Srovnání jakosti a zdravotní nezávadnosti biopotravin a konvenčních potravin T. Komprda	729
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY	
Nástroje pro diagnostiku spektrometru s indukčně vázaným plazmatem D. Švejcarová a M. Fišera	733
porovnání způsobů přípravy oxidických vzorků tavením pro analýzu metodou rentgenové fluorescenční spektrometrie Š. Vinklerová	740
HPLC stanovenie sacharidov v procese modelovaného zrýchleného starnutia papiera K. Hroboňová, J. Lehotay, M. Jablonský a S. Katuščák	744
POLYSACHARIDY 2009	753
LIBLICE 2008 – Dodatky	783

CHEMISCHES ZENTRALBLATT SE PO 40 LETECH VRACÍ JAKO UŽITEČNÝ INFORMAČNÍ ZDROJ

JAROSLAV ŠILHÁNEK

*Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
Jaroslav.Silhanek@vscht.cz*

Klíčová slova: *Chemisches Zentralblatt*, referátový časopis, historie chemie, digitalizace periodik

Úvod

Název *Chemisches Zentralblatt* je snad ještě i dnes pro současnou generaci chemiků alespoň vágně spojen s pojmem referátový časopis, i když už asi jen málokdo si vzpomene na to, jak vlastně vypadal nebo dokonce na praktické zkušenosti s jeho využíváním. Tento nejstarší chemický referátový časopis začal vycházet jako vůbec první takový časopis orientovaný na publikování více či méně stručných abstraktů o původních člancích v ostatních chemických vědeckých časopisech již v roce 1830. Vyjma krátkého období ke konci 2. světové války vycházel nepřetržitě až do roku 1969, prakticky téměř 140 let a má tedy stále prioritu nejdéle vydávaného referátového časopisu. Po naprostou většinu doby své existence se těšil velké reputaci jako vysoce spolehlivý a přesný zdroj informací, i když nikdy neměl tížďadost pokrýt opravdu všechny primární zdroje, které na světě v chemických disciplínách vycházejí. Příčiny konce časopisu si stručně připomeneme dále, ale hlavní důvod, proč se k němu dnes vracíme, je skutečnost, že byl kompletně digitalizován a je i pro chemickou veřejnost v České republice snadno dostupný.

Stručná historie

Jak je uvedeno výše, časopis začal vycházet v roce 1830 pod názvem *Pharmaceutisches Central-Blatt*, později byl přejmenován na *Chemisch-Pharmaceutisches Centralblatt* a konečně v roce 1856 na *Chemisches Centralblatt*. Poslední úprava pak bylo jen gramatická na *Chemisches Zentralblatt*. Časopis nejdříve vydávalo soukromé vydavatelství G. Th. Fechner a od roku 1897 až do jeho zastavení jej převzala v plné míře *Deutsche Chemische Gesellschaft*. Problémy, které nakonec vedly k ukončení, jsou v podstatě důsledkem situace po druhé světové válce, kdy bylo vydávání obnoveno až v roce 1947, ale separátně ve východním a západním Německu. Toto nesmyslné rozdělení bylo sice překonáno a od roku 1951 byl časopis vydáván společně vědeckými společnostmi v obou němec-

kých státech, ovšem tato idyla trvala jen necelých 20 let. Velmi rychlý nárůst celkového objemu vědeckých informací zpracovávaných ruční exercepcí z primárních zdrojů na kartotéční lístky, ze kterých pak byly sestavovány rejstříky, vedl ke stále narůstajícímu zpoždění zpracování primární produkce a tudíž ke ztrátě aktuálnosti, jednoho z hlavních důvodů pro existenci takové služby. V době ukončení vydávání v roce 1969 bylo zpoždění mezi vydáním čísla primárního časopisu a zpracováním jeho článků v *Chemisches Zentralblatt* až dva roky.

Hlavní konkurent *Chemisches Zentralblatt*, referátový časopis *Chemical Abstracts*, který začal vycházet až o téměř osmdesát let později v roce 1907, se velmi rychle orientoval na možnost využití výpočetní techniku, která se právě stávala relativně dostupným nástrojem a USA byly v této oblasti určitě nejdále. Přesto, že klíčová práce, vlastní exercepcí informací z primárních zdrojů, byla stále předmětem „ruční“ intelektuální práce, ukládání takto získaných dat a hlavně další manipulace s nimi, např. tvorba rejstříků, se stala nesrovnatelně efektivnější, a to i s využitím tehdejších, z dnešního hlediska technicky nesrovnatelných počítačů. Protože vydávání bylo realizováno jak v západním, tak i východním Německu, tehdejší spojenecké úřady v žádném případě nebyly ochotny vydat povolení na nákup vyspělé výpočetní techniky do východního bloku. A protože na straně východního bloku vhodná výpočetní technika ještě nebyla, bylo asi velmi rozumně rozhodnuto o ukončení vydávání. Nějakou dobu bylo možné ještě *Chemisches Zentralblatt* nacházet na regálech knihoven, ale z pochopitelných důvodů se odtamtud brzy přestěhoval do depozitářů, pokud vůbec nebyl zlikvidován, protože referátové časopisy velmi rychle ztrácejí na své aktuálnosti a zůstávají jen jako v jistém smyslu inventárními soupisy primárních zdrojů své doby. Podrobnější popis najde zájemce v publikaci Hanče a spol.¹

Po odstranění hlavní bariéry, tj. rozdělení Německa, se krátce objevila i myšlenka na plné obnovení činnosti a opětné vydávání časopisu. Od tohoto záměru bylo na štěstí upuštěno, protože taková činnost je mimořádně organizačně i finančně nákladná a těžko by se obnovený časopis prosazoval proti silnému postavení *Chemical Abstracts* a otevřeně řečeno, byla by to celkem zbytečná konkurence nutící chemické instituce nakupovat obojí. Jinou záležitostí je ale význam *Chemisches Zentralblattu* jako systematicky zpracovaného dokumentu o 140 letech vývoje a historie chemie. To byla nepochybně hlavní motivace snahy tento materiál zpřístupnit a díky současným digitalizačním technikám se ukázalo, že je to v zásadě realizovatelný úkol, kterého se opět ujala Německá chemická společnost. Za podpory z různých zdrojů včetně státních, byla vlastní práce realizována institucí *Fachinformationszentrum Chemie GmbH* v Berlíně. Výsledkem je elektronický informační zdroj (s jistou licencí můžeme použít i označení

báze dat) představující v pravém slova smyslu kompletní digitalizaci všech vydaných svazků *Chemisches Zentralblatt* včetně rejstříků od prvního svazku v roce 1830 až do posledního v roce 1969. Jednalo se o digitalizaci více než 40 metrů knih vážících více než 3 tuny a výsledný soubor má rozsah 2 TB (terabyt). Materiál je zpřístupňován buď pro instalaci na počítačové technice instituce, která jej zakoupí, nebo formou vzdáleného přístupu přes webovské rozhraní, což je i náš případ. Díky vstřícnosti producenta i Německé chemické společnosti (*Gesellschaft Deutscher Chemiker*) mají čeští chemici totiž mimořádnou možnost tento materiál využívat přímo z webovské stránky České společnosti chemické.

Jak lze s digitalizovanou verzí *Chemisches Zentralblatt* pracovat?

Jak je uvedeno, jedná se v pravém slova smyslu o digitalizovaný soubor všech svazků tak, jak kdysi stály na regálech knihoven. Práce s takovým souborem je pak pochopitelně poněkud jiná, než s bázemi dat, na které jsme si už za posledních téměř 20 let zvykli. Soubor je přístupný tak, jak byl digitalizován, tj. ve formátu jpeg nebo pdf. Obojí má své výhody a nevýhody, ale je možné snadno přepínat mezi jedním i druhým modem. Zadávání dotazu je velmi jednoduché, hlavní způsob spočívá ve vyhledání zadaného řetězce znaků v plném textu. Pokročilé hledání, „Advanced Text Search“, nabídne zadávání více řetězců, celých frází nebo určitou formu vzdálenosti řetězců, tedy tzv. „Proximity Search“. Tyto alternativy jsou bohatší než bývá zvykem, jejich využití nejlépe pochopíme formou pokusu a výsledku. Konečně můžeme přímo zobrazit jakoukoliv stránku kteréhokoliv svazku, což zní sice nesmyslně, ale ve skutečnosti je to naprosto stejný postup jako při práci s tištěným svazkem, kdy jsme nejdříve našli v rejstřících odkaz a ten jsme pak vyhledali na regálech. Protože tato možnost, označovaná jako „View Zentralblatt“, nám sdělí, zda v daném kalendářním roce existuje jeden ročník nebo dva (což byla běžná praxe v pozdějších letech) a současně uvede rozsah stran, můžeme si zadáním první stránky svazek otevřít a jednoduše v něm listovat.

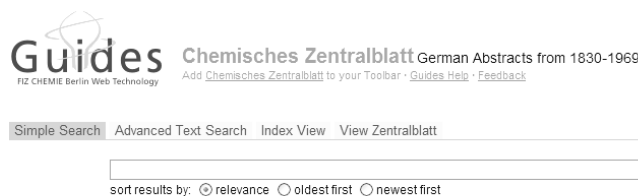
Pokud zadáme poslední stránku, nebo stránku ke konci svazku, otevřou se nám rejstříky na konci svazku. Konečně je možné zobrazit část rejstříku, spíše ovšem soupis jednoslovných hesel vyskytujících se v celém textu² (viz obr. 1).

Odpovědí na zadání hledaného řetězce je nabídka míst v celém díle, kde se zadaný řetězec vyskytuje. Systém přitom nezobrazuje jen zadaný řetězec, ale i jeho nejbližší okolí, což do jisté míry umožňuje orientaci o povaze nalezeného místa v díle. Tak např. hledáním informací o alloxanové kyselině zadáním řetězce „Alloxansaeure“, dostaneme kromě řady dalších i takový odkaz:

...Lösung von **Alloxansäure** in absoluten Alkohol kann ohne Veränderung...nicht. Die **Alloxansäure** besitzt den Charakter einer zweibasischen...in HarnstoN und mesoxatsaure Salze. **Alloxansäure** und Kali, a) neutrales alloxansaures...

Ne vždy je zobrazené okolí zadaného řetězce tak rozsáhlé, ale v každém případě je to užitečná informace o tom, co můžeme u konkrétního odkazu očekávat. Na uvedeném ukázce si ale můžeme povšimnout jednoho specifického aspektu. Jelikož byly digitalizovány poměrně staré texty s různou kvalitou textu i případného poškození v důsledku stáří, digitalizační program musel tyto rozdíly zvládnout a pak vyhledávací systém rozpoznat hledaný řetězec. Že se to ne vždy podaří si můžeme všimnout u slova „HarnstoN“, které je částečně „špatně přečteno“ a i u následujícího „mesoxatsaure“. Když se podíváme na uvedený odkaz na digitalizované stránce, zjistíme, že oba termíny jsou v pořádku, jen rozpoznávací technika ještě není tak úplně dokonalá.

Dalším logickým důsledkem dané formy zpřístupnění je, že jsou digitalizovány bez rozlišení jak svazky odkazů (abstraktů), tak i svazky rejstříků. Takže hledaný řetězec je nalezen jednou v textu bibliografického odkazu a jeho abstraktu a podruhé jako řetězec ve svazku rejstříku. Po krátké praxi se to dozvíme ze sice velmi malých, ale celkem srozumitelných ikon na levé straně soupisu odkazů. Výskyt řetězce v rejstříku si musíme zaznamenat a v daném svazku vyhledat příslušnou stránku pomocí nabídky *View Zent-*



CHEMISCHES
ZENTRALBLATT
SINCE 1830

Obr. 1. Úvodní obrazovka digitalizované verze *Chemisches Zentralblatt*

ralblatt. Dále si musíme uvědomit, že *Chemisches Zentralblatt* byl jedním z vůbec prvních referátových časopisů a dlouhou dobu hledal svou tvář tak, jako ji hledaly v té době všechna podobná díla. Proto u nejstarších svazků nemůžeme očekávat strukturu záznamů, na jakou jsme zvyklí. První svazky *Chemisches Zentralblattu* obsahují nejdříve několik obsáhlých referátů o dané problematice uveřejněných v jiném periodiku, včetně experimentálních detailů a komentářů s příslušným odkazem. Následuje oddíl označený jako: *Kleinere Mitteilungen*, což jsou ale spíše právě jen stručné abstrakty článků z jiných periodik, tedy zárodek pozdějších abstraktů. Ale to už jsou problémy, se kterými se setkává každý, kdo pracuje s historickým materiálem.

Několik ilustrací možností využití

Velmi dlouho známou sloučeninou je alloxan a jeho deriváty. Méně už je známý derivát alloxanu, kyselina alloxanová (*Alloxansäure*, *Alloxanic acid*). Beilsteinovo kompendium tuto sloučeninu uvádí až v 1. doplňcích ve svazku XXV na str. 601, přičemž v tištěné verzi kompendia lze najít poznámku, že tato sloučenina byla zmíněna už v Základním díle (*Hauptwerk*) ve svazku III na str. 772, ale s chybnou strukturou, která po upřesnění zařadila látku mezi heterocyklické sloučeniny. Tuto informaci elektronická báze kupodivu neposkytne a pod označením *Alloxansäure* poskytne správnou strukturu s CAS RN 470-44-0 a s celkem 16 odkazy na původní práce. Nejstarší odkazy pocházejí z roku 1915 až 1917, odkazy na původní strukturu z roku 1833 v elektronické bázi Beilstein chybí.

Jestliže budeme hledat starší odkazy v digitalizované verzi *Chemisches Zentralblatt*, dostaneme celkem 141 upozornění na zmínky o výskytu názvu *Alloxansäure* v textu nějakého svazku *Chemisches Zentralblatt*. Ve většině případů se jedná o opakované zmínky názvu v jednom článku, resp. v kontextu tohoto referátového časopisu v textu velmi obsáhlého abstraktu. Pokud budeme postupně nabídnuté odkazy otevírat a místo otevírání evidentně stejného zdroje listovat stránkami, získáme velmi mnoho zajímavých informací, protože tyto referáty uvádějí nejenom experimentální detaily, ale i výsledky analýz, chování reakcí a produktů včetně jejich vzhledu a prakticky nahrazují původní článek. To bylo ostatně hlavním smyslem tehdejší praxe. V daném případě tak získáme více než 10 původních článků poskytujících informace o kyselině alloxanové, na které neodkazuje ani Beilsteinovo kompendium. Jedná se přitom jak o články dnes asi těžko dostupné, např. odkaz na *Lond. Edinb. and Dubl. Philos. Mag. 1844, March, o.186-191*, kde ale abstrakt poskytuje velmi podrobné informace, tak i odkazy na hlavní tehdejší i dnešní časopisy jako *Ann. der Pharm. LV. S.251-297*, které jsou dnes k dispozici jako plné texty v souborech archivů. Snadno se tak dopátráme první zmínky o hledané sloučenině a můžeme sledovat vývoj názorů na její strukturu i interpretaci vlastností.

Dojdeme-li v souboru 141 zmínek na zadanou slouče-

ninu na konec, dostaneme odkazy na abstrakty z šedesátých let, jejichž podoba je prakticky stejná, jakou známe dnes a můžeme případně doplnit rešerše z dnešních zdrojů, především *Chemical Abstracts*, odkazy i z *Chemisches Zentralblatt*, což pečliví chemici oněch let dělávali. A právě v tomto náhodně zvoleném příkladu se ukázalo, že odkaz na práci z roku 1964 v prestižním časopise Americké chemické společnosti³, takto spoluvydavatele *Chemical Abstracts*, podrobně popisující hledanou sloučeninu, tento referátový časopis nezachytil, zatímco *Zentralblatt* ano. Takže na tvrzení chemiků starší generace, že *Zentralblatt* je spolehlivější, něco určitě bylo.

Jako řetězec můžeme hledat i sumární nebo principiálně jakékoliv vzorce v jejich linearizovaném tvaru. Je ale nutné mít na paměti, že vzorcové rejstříky (*Formelregister*) tak, jak je známe z novější doby, existují teprve od roku 1922, včetně tzv. souhrnných (kumulativních) rejstříků, ovšem za daleko kratší období, než známe z *Chemical Abstracts*. Takže pokud se pokusíme obdobně vyhledat informaci o výše zmíněné kyselině alloxanové prostřednictvím jejího sumárního vzorce: $C_4H_4N_2O_5$, dostaneme jen 8 nabídek, z nichž nejstarší z roku 1864 registruje výskyt tohoto sumárního vzorce v textu abstraktu a hned další „nejstarší“ takový odkaz je až z roku 1956. K tomu ještě patří informace, že vzorcové rejstříky používaly tzv. Richterův systém řazení prvků, tedy uhlík, vodík a dále v pořadí: O, N, Cl, Br, J, F, S, P, As a dále podle abecedy. Dále stojí za zmínku, že starší praxe v *Chemisches Zentralblatt* uváděla sumární vzorce sice pro většinu organických sloučenin, ale jinak jen pro látky, pro které nebyly používány běžné triviální názvy.

Hlavním rejstříkem v *Chemisches Zentralblatt* byl po dlouhou dobu rejstřík věcný (*Sachregister*), a to včetně názvů chemických sloučenin. Takže např. při pokusu získat nejstarší informace o anthranilové kyselině prostřednictvím jejího sumárního vzorce $C_7H_7O_2N$ dostaneme jen 25 odkazů (a samozřejmě ne všechny se týkají této sloučeniny), přičemž „nejstarší“ je právě z roku 1922, zatímco zadání názvu *Anthranilsäure* vede k 4750 odkazům počínaje rokem 1841. Pokud v souboru nalezených odkazů narazíme na odkaz z rejstříku, musí následovat stejný krok, jako při práci s tištěnými rejstříky, tj. podle odkazu na rok, svazek a stránku si otevřeme pomocí nabídky *View Zentralblatt* na vstupní obrazovce příslušnou stránku abstraktů. Posledním problémem pak bývá identifikace primárního zdroje většinou podle zkratky, která reflektuje tehdejší citační praxi. Podrobnější informace o práci s tištěnými rejstříky *Chemisches Zentralblatt* je popsána v knize Hanč, Hummel, Hlavica¹ nebo v jejich dalších vydáních.

Zajímavým příkladem užitečnosti může být hledání původu tzv. Kjeldahlovy metody stanovení dusíku. Zadáním tohoto hesla dostaneme odkaz na zřejmě první popis této metody od autora z roku 1883 (cit.⁴) a kromě zajímavé možnosti sledovat její další vývoj a postupné upřesňování a různé aplikace také důkaz, jak rychle se v té době informace o evidentně důležitých objevech šířily. A obdobně jako v předchozím příkladu si dnes můžeme snadno otevřít

plný text tohoto článku v elektronické podobě. A odkazy na Kjeldahlovu metodu se objevují v *Zentralblattu* ještě v roce 1969 (cit.⁵). Na tomto odkazu si můžeme povšimnout velkého zpoždění zpracovávání u *Zentralblattu* na konci jeho vydávání.

Budeme-li hledat informace o prvních způsobech přípravy primárních aminů, můžeme dotaz formulovat např. jako kombinaci hesel: *Darstellung primäre Amine*, a to buď přesně v této podobě jako frázi v nabídce *Advanced Text Search*, nebo volněji jako kombinaci stejných hesel, ale s využitím *Advanced Proximity*, kde požadujeme výskyt oněch termínů v rozsahu od 1 do 80 slov (odstupňovaně), a to buď v zadaném nebo libovolném pořadí. Zahrneme-li ještě různé tvary slova „*Darstellung*“, konkrétně jen zkratku *Darst.* nebo naopak košatější tvar *Darstellungsweise* rozšířením pomocí hvězdičky, tedy *darst** v rozsahu 5 slov v zadaném pořadí, dostaneme řadu odkazů, např. na první zprávy o Gabrielově syntéze z ftalimidu z roku 1887 včetně experimentálních podrobností⁶ nebo hned v následujícím přehledném referátu⁷. Nalezené odkazy nás pak mohou často inspirovat k jiným formulacím dotazu. Možností je velmi mnoho, je ovšem třeba zkoušet různé cesty, různé tvary termínů včetně zkratk, protože praxe jejich používání byla evidentně vždy jen zvyková a nebyla nikdy standardizována, jakož i formulační bohatost nebo naopak zkratkovitost textu. Znalost němčiny pochopitelně není na škodu.

Shrnutí

Snad tento stručný popis a několik příkladů využití podnutí chemiky, aby vzali existenci digitalizované formy referátového časopisu *Chemisches Zentralblatt* na vědomí, zařadili si odkaz do svých oblíbených položek a podle své problematiky a konkrétního zájmu jej využili. Tento zdroj nám nabízí nejenom informace o našem oboru za dvě třetiny 19. století, které jsou jinak nedostupné, ale můžeme si tak ještě doplnit výsledky rešerší např. z *Chemical Abstracts*, bázi dat *Beilstein* nebo *Gmelin*, o údaje z paralelně zpracovávaného zdroje za období téměř dvou třetin 20. století. A dále, díky tomu, že velká část primární časopi-secké literatury, a to především těch nejdůležitějších titulů, je dnes kompletně digitalizovaná od svých prvních svazků jdoucích také hluboko do 19. století a můžeme si tak nelezene odkazy z *Chemisches Zentralblatt* bezprostředně otevřít na obrazovce počítače, dostává se i historické bádání o chemii z prostředí historických knihoven a archivů na nesrovnatelně efektivnější úroveň. Ale v každém případě

zůstává již v úvodu formulovaná motivace, že digitalizace *Chemisches Zentralblattu* zpřístupnila a v pravém slova smyslu zachránila práci generací chemiků pro budoucnost.

LITERATURA

1. Hanč O., Hummel V., Hlavica B.: *Chemická literatura, její dokumentace a použití*. 1.vyd. Nakl. Čs. Akademie věd, Praha 1954, str. 330, 2. přepracované vydání, Nakl. SNTL, Praha 1961.
2. Název *Guides* je chráněná známka FIZ Chemie Berlin pro univerzální aplikaci mající širší využití než jen pro digitalizovanou verzi *Chemisches Zentralblatt*.
3. Struck W. A., Elving P. J.: *J. Amer. Chem. Soc.* 86, 1229 (1964).
4. Kjeldahl J.: *Zeitschr. Anal. Chem.* 22, 366 (1883).
5. Farmer S. N., Howarth C. J., Hughes L. B.: *Chem. Ind.* 4, 154 (1967).
6. Gabriel S.: *Berichte* 20, 2224 (1887).
7. Gabriel S.: *Mathemat. u. naturwissenschaftl. Mitt. a.d. Sitzungsber. d. kgl. pr. Akad. d. Wiss. zu Berlin.* 5, 297, 7/6 (1888).

J. Šilhánek (*Institute of Chemical Technology, Prague*): **Chemisches Zentralblatt – Historical Present**

The most important reference work for chemistry, covering 140 years of chemistry history has been digitized and made available to chemical community as an electronic information source. By this undertaking, data collection about research and progress in chemistry disciplines has moved from depositories back onto the desks of practising chemists in a much more efficient and usable form. Clearly, the digitized form, covering all printed volumes from the first page in 1830 to the last page in 1969, requires a somewhat different approach to searching than electronic databases which we are using at present. The user is always looking for a string of characters representing an author's name or a subject term or a chemical name and the search results are displayed as a set of references to pages of the printed volume. Displaying close vicinity of the given string helps to decide whether a reference is useful or not. Despite somewhat more laborious usage, the main value of the digitized version of *Chemisches Zentralblatt* is in bringing back this monument of information from storage to life and preventing the work of thousands of chemists from being lost and forgotten.

50 LET RADIOIMUNOANALÝZY

OLDŘICH LAPČÍK

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6

Oldrich.Lapcik@vscht.cz

Klíčová slova: radioimunoanalýza, inzulin, hormon, medicína, přírodní vědy

Počátky endokrinologie provázely zásadní nedostatek analytických metod. Hormony bylo možné identifikovat v endokrinních žlázách, některé metabolity i v moči, o několik řádů nižší koncentrace v krvi však byly chemickými metodami nedostupné. Biologické testy byly pracné, nákladné a náročné na zkušenost experimentátora. Diabetologie nebyla výjimkou.

Objev inzulinu a jeho přípravy ze slinivky jatečných zvířat (F. Banting a Ch. Best, 1921) zlepšil životní vyhlídky milionů pacientů. Vývoj léčebných metod ale nebyl snadný. Inzulin u mnoha pacientů ztrácel po čase účinnost, ke kompenzaci diabetu bylo nutné podávat dávky mnohonásobně převyšující produkci pankreatu zdravých osob. Příčina tohoto jevu byla záhadou. Přitom bylo zřejmé, že její odhalení může být klíčem ke zlepšení léčby.

Jako pravděpodobná se na počátku 50. let jevila představa, že by mohlo jít o důsledek zvýšené aktivity dosud nepopsaného enzymu, inzulinasy¹. Vzhledem k tomu, že techniky pro sledování koncentrace inzulinu v krvi neexistovaly, nebylo zpočátku možné tuto hypotézu testovat. Ve stejné době získávali zkušenosti s využitím radioaktivity k řešení biologických problémů pracovníci izotopové laboratoře nemocnice Veterans Administration v Bronxu, absolventka jaderné fyziky Rosalyn Yalowová a lékař Solomon Berson. S pomocí dostupných izotopů (²⁴Na, ³²P, ⁴²K, ⁸²Br, ¹³¹I) zkoumali distribuci iontů v extracelulárním prostoru, metabolismus erytrocytů, příjem jodu štítnou žlázou a metabolický obrat sérového albuminu². V roce 1954 obrátili svoji pozornost k inzulinu. Záhy vyladili techniku značení tak, že jejich preparát nesl půl až jeden atom jodu ¹³¹I v molekule a přitom si plně zachoval biologické vlastnosti. Značený inzulin aplikovali nitrožilně dobrovolníkům – pacientům i zdravým kontrolám. Použili dávky v rozmezí 0,1 do 7,0 jednotek, které představovaly 0,56 až 7,4 MBq radioaktivity³. Pokud by příčinou snížení účinnosti inzulinu u diabetiků bylo rychlejší odbourávání, musel by se jim z krve ztráčet rychleji. Ve skutečnosti tam ale radioaktivita zůstávala podstatně déle než u kontrol a zadržovali ji i probandi, jimž byl v minulosti inzulin aplikován z psychiatrických důvodů (používal se k vyvolání hypoglykemického šoku při léčení schizofrenie). Chování radioaktivity při frakcionacích séra různými metodami

(precipitace proteinů trichloroctovou kyselinou, vysolování síranem sodným, elektroforéza, ultracentrifugace) Bersona s Yalowovou přivedlo k závěru, že příčinou delšího setrvání inzulinu v krvi pacientů a zároveň důvodem jeho inaktivace jsou protilátky, jež se vytvořily po injekcích inzulinu zvířecího. První verze připraveného článku u recenzentů tvrdě narazila. Představa, že tak malá molekula, nadto téměř totožná s lidským inzulinem, může vyvolat tvorbu protilátek, byla příliš originální. Aby dosáhli alespoň uveřejnění svých experimentů, ustoupili Yalowová s Bersonem na čas od navrženého výkladu. Pozorovaný protein nazvali prostě „inzulin vázající globulin“^{3,4}. Doplnění důkazů toho, že jde o protilátky, jim zabralo další dva roky⁵. Kromě sér pacientů používali i séra morčat imunizovaných podkožní aplikací hovězího inzulinu. Při porovnávání jejich vazebných vlastností vytvořili, jaksi nad původní záměr, systém schopný měřit v té době nepředstavitelně nízká množství hormonu, kompetitivní radioimunoanalýzu (RIA). První krátká zpráva, v níž popsali princip metody a poprvé uvedli koncentrace inzulinu měřené v krvi dvou zdravých osob nalačno a po stimulaci sto gramy glukosy, spatřila světlo světa v časopisu *Nature* 21. listopadu 1959 (cit.⁶). Plný článek, jenž vedle podrobného popisu metody obsahoval výsledky zátěžového testu u 30 kontrol a 66 pacientů, vyšel o osm měsíců později, v červencovém čísle *Journal of Clinical Investigation*⁷.

První RIA byla v porovnání s dnešními podobami imunoanalýzy poměrně zdlouhavá a pracná. Inkubace protilátky se směsí vzorku či standardu s radioligandem při teplotě +4 °C trvala čtyři dny. K oddělení volné a vázané frakce sloužila papírová elektroforéza, která také zabrala několik hodin. Pak bylo nutné pro každý vzorek vyhodnotit distribuci radioaktivity na elektroforeogramu⁷. Proti dostupným biologickým testům to však byla metoda jednoduchá, reprodukovatelná a hlavně o několik řádů citlivější. Yalowová s Bersonem si uvědomovali, že v první řadě jde o metodu imunochemickou. Jako by předjímal i možnost jiného značení, používali ve svých pracích termín *immunoassay* bez předpony *radio-*.

Bylo zřejmé, že obdobné metody založené na soutěži značeného a neznačeného antigenu o vazebná místa, bude možné vypracovat i pro další analyty. Yalowová s Bersonem chtěli tuto možnost poskytnout celému světu, a proto své poznatky uveřejnili bez patentové ochrany⁸.

V následujících letech se zaměřili na vývoj a využití RIA pro další peptidové hormony (1963: růstový hormon a parathormon; 1968: adrenortikotropin; 1970: gastrin; 1975: somatomedin) a detekci viru hepatitidy B (1970). Škála analytů se díky jejich následovníkům záhy rozrostla o množství hormonů, léčiv, vitamínů, sérových proteinů, diagnostických markerů a dalších látek. Dostupnost analýz umožnila rozvinout diagnostiku řady chorob a metabolických poruch, zlepšit zdravotní péči a uskutečnit rozsáhlé

skriningové programy. Rosalyn Yalowová nijak nepřeháněla, když při přebírání Nobelovy ceny v roce 1977 přirovnala prostor, který RIA otevřela medicíně a vědám o životě k tomu, jenž se před mikrobiologií a astronomií rozprostřel po vynálezech mikroskopu a teleskopu⁴.

Rosalyn Yalowová (roz. Susmanová) se narodila 19. července 1921 v New Yorku. Na střední škole se nadchla pro chemii a fyziku. Okouzil ji životopis Marie Curie a přednášky Enrica Fermiho, jichž se účastnila v roce 1939. Navzdory dobovým předsudkům se přihlásila ke studiu jaderné fyziky na Univerzitě v Illinois. V roce 1942 získala titul MSc. a v roce 1945 doktorát. V letech 1945 až 1950 vyučovala fyziku a přitom pracovala jako dobrovolnice na Columbia University, kde získala praktické zkušenosti s aplikací radioaktivity v medicíně. Ty v letech 1948 až 1949 uplatnila jako konzultantka při zakládání radioizotopové laboratoře nemocnice Veterans Administration v Bronxu, kam nakonec v lednu 1950 přešla na plný úvazek. O několik měsíců později zde potkala svého nejvýznamnějšího spolupracovníka, Solomona Bersona. Ve společné laboratoři strávili osmnáct let a jejich spolupráce pokračovala i poté, co Berson odešel na místo vedoucího katedry na newyorské Mt Sinai School of Medicine. Ukončila ji až jeho náhlá smrt v roce 1972. Po ní Yalowová prosadila přejmenování jejich pracoviště na Laboratoř Solomona Bersona – do konce své aktivní dráhy tak mohla psát jeho jméno na všechny publikace alespoň v adrese. V roce 1977 Rosalyn Yalowová obdržela za vývoj radioimunoanalýzy pro peptidové hormony Nobelovu cenu. Výzkumnou činnost ve Veterans Administration ukončila v roce 1991, v dalším desetiletí působila jako profesorka na Mount Sinai School of Medicine. Nyní žije na odpočinku ve svém domě v Bronxu.

Solomon Berson (22.4.1918 – 11.4.1972) se narodil v roce 1918 v New Yorku, jako nejstarší ze tří dětí ruského imigranta, podnikatele v barvení kožešin. Jeho cesta ke studiu medicíny nebyla snadná – dříve než uspěl na newyorské univerzitě, skončilo jedenadvacet přihlášek na různé lékařské fakulty zamítnutím. Lékařský diplom získal v roce 1945. V letech 1946–1948 sloužil v armádě. Poté přešel do nemocnice Veterans Administration v Bronxu. V roce 1950 zde začala jeho dlouholetá spolupráce s Rosalyn Yalowovou, jejímž výsledkem byla řada zásadních objevů v diabetologii a endokrinologii. (Např. objev proti-

láték proti inzulinu, jehož vedlejším produktem byl vývoj RIA metodik, přispěl k objasnění autoimunitních procesů a etiologie diabetu II. typu.) V roce 1968 Berson přijal místo profesora na Mount Sinai School of Medicine. Za své objevy získali s Yalowovou řadu ocenění. Toho nejprestižnějšího, Nobelovy ceny, se ale Solomon Berson nedožil. V dubnu 1972 zemřel na srdeční infarkt.

LITERATURA

1. Mirsky I. A.: *Recent Progr. Horm. Res.* 7, 437 (1952).
2. Rall J. E., Solomon A. Berson, v: *Biographical Memoirs*. National Academy of Sciences 59, 54 (1990). (http://books.nap.edu/openbook.php?record_id=1652&page=54)
3. Berson S. A., Yalow R. S., Bauman A., Rotschild M. A., Newerly K.: *J. Clin. Invest.* 35, 170 (1956).
4. Yalow R. S.: Nobel Lecture, 8 December 1997 (http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1977/yalow-lecture.pdf)
5. Berson S. A., Yalow R. S.: *J. Clin. Invest.* 38, 1996 (1959).
6. Yalow R. S., Berson S. A.: *Nature* 84, 1648 (1959).
7. Yalow R. S., Berson S. A.: *J. Clin. Invest.* 39, 1157 (1960).
8. Straus E.: *The Mount Sinai Journal of Medicine* 67, 54 (2000).

O. Lapčík (*Institute of Chemical Technology, Prague*): **50 Years of Radioimmunoassay**

The invention of radioimmunoassay techniques by Rosalyn Yalow and Solomon Berson 50 years ago opened new horizons for many branches of medicine and life sciences. Their first paper, describing quantitative immunoassay of plasma insulin in human subjects and overwhelming the then used analytical methods by several orders of magnitude in terms of sensitivity and accuracy, was published in an issue of *Nature* that appeared on 21st November 1959. The spectrum of applications of RIA methodology spread promptly into many areas – such as analysis of hormones, drugs, vitamins, serum proteins, diagnostic markers, viruses and bacteria. For the development of RIA of peptide hormones, Rosalyn Yalow was awarded the Nobel Prize in 1977.

Ze života chemických společností

Zpráva o výsledku voleb do Hlavního výboru a Revizní komise České společnosti chemické na období 2009–2013

Vážení, členky a členové ČSCH,

korespondenčních voleb do Hlavního výboru a Revizní komise ČSCH se zúčastnilo 221 z celkového počtu 2128 členů (10,4 %) a to formou zaslání hlasovacího lístku poštou nebo elektronicky. Volby byly ukončeny dne 28. 8. 2009. Všechny hlasovací lístky doručené do tohoto data byly platné. Kriteriem pro zvolení do Hlavního výboru byl počet získaných voličských hlasů. Pořadí zvolených 16 členek/členů HV dle počtu odevzdaných hlasů bylo následující: Pavel Drašar (140), Jiří Berek (138), Jitka Ulrichová (129), Václav Slovák (117), Martin Fusek (112), Karel Lemr (112), Karel Ventura (112), Jitka Moravcová (109), Jaroslav Koča (109), Vladimír Křen (108), Zdeňka Kolská (105), Viktor Kanický (103), Jan Tříška (101), Karel Bláha (100), Stanislav Kafka (95) a Jarmila Vinšová (93). Pořadí ostatních kandidátů bylo: Michal Holčapek (89), Františka Pavlíková (88), Hana Čtrnáctová (85), Jana Čopíková (83), Pavel Zachař (78), Jiří Vohlídal (67), Pawel Stawiski (55), Tomáš Elbert (38). Členy Revizní komise byli zvoleni Oldřich Lapčík, Ivo Paseka a Karolína Pecková. Termín schůze zvoleného Hlavního výboru a Revizní komise určí volební komise, a to nejpozději do 31. 10. 2009. Jediným bodem programu bude volba členů předsednictva Společnosti.

V Praze, 2. září 2009

Helena Pokorná, Milan Potáček, Vilím Šimánek

Jaderná chemie v Evropě – od neformální asociace k aktivní divizi EuChemS

Počátky – Evropská radiochemická asociace (ERA)

Prvním výrazným výsledkem snah o koordinaci a mezinárodní spolupráci v oblasti jaderné chemie v Evropě, které se datují od počátku 80. let, bylo uspořádání první mezinárodní konference „Nuclear and Radiochemistry (NRC)“. Konferenci, pořádanou v roce 1984 v německém Lindau, zaštítily německá GDCh, odbornou úroveň garantoval mezinárodní poradní výbor (IAB) složený z nejvýznamnějších evropských jaderných chemiků, který byl ustaven ad hoc v neformálních jednáních zástupců evropských chemických společností. Tento IAB garantoval i další konference v této sérii, které se konaly v roce 1988 v Brightonu (Velká Británie), v roce 1992 ve Vídni (Rakousko) a v roce 1996 v St. Malo (Francie). Z došlých nabídek národních chemických společností vybírá podle zavedeného systému místo pořádání další konference IAB,

konference se konají zásadně v Evropě, aby byly přístupné co nejširšímu spektru evropských účastníků.

Již od okamžiku počínající mezinárodní spolupráce se Radiochemical Methods Group (RCG) britské RSC snažila prosazovat cestu vedoucí k vytvoření mezinárodní instituce sdružující všechny evropské jaderné chemiky. Při prvním průzkumu se však ukázalo, že pro vznik takovéto organizaci zatím nejsou všude vytvořeny vhodné podmínky. Z průzkumu však jednoznačně vyplynulo, že vzájemná informovanost – minimálně formou pravidelného zpravodaje – je velmi žádoucí.

V srpnu roku 1995 proto svou činnost zahájilo neformální seskupení Evropská radiochemická asociace – (European Radiochemists Association – ERA), současně bylo vydáno první číslo zpravodaje „Radiochemistry in Europe“. Asociace si vytkla za cíl rozšiřovat a zlepšovat komunikaci mezi evropskými radiochemiky, prohlubovat kontakty s jinými skupinami a společnostmi s podobnými zájmy, zřídit kalendář mezinárodních akcí, vyměňovat si navzájem informace o specializovaných zařízeních a technologiích a především vydávat a distribuovat zpravodaj „Radiochemistry in Europe“. Základní zázemí pro činnost ERA poskytla britská RSC a i když se činnost asociace, její financování a distribuce zpravodaje zpočátku potýkala s mnohými problémy, sehrála zásadní roli při navázání a uchování vzájemných kontaktů mezi evropskými radiochemiky. Klíčovou roli při vzniku ERA hrál zejména entuziasmus Dr. Anthonyho R. Wareho z RCG RSC, který se stal i editorem vzniklého zpravodaje.

Vznik odborné skupiny při Federaci evropských chemických společností

V září roku 1999 se v Helsinkách konalo zasedání Federace evropských chemických společností (FECS). Na tomto zasedání přednesl Dr. Jukka Lehto (University of Helsinki) návrh Dr. A. Wareho na zřízení formální odborné skupiny pro jadernou chemii a radiochemii. Valné shromáždění FECS návrh jednoznačně podpořilo a byla ustavena „Working Party for Nuclear and Radiochemistry (WP NRC)“. Delegovaní zástupci národních chemických společností se poprvé sešli na zasedání WP pořádaném v průběhu páté konference NRC ve švýcarské Pontresině v září roku 2000. Mezi první úkoly, které si WP do počátku své činnosti vytkla, patřilo nadále vydávat Zpravodaj, zastřešovat organizování pravidelných konferencí NRC a ve čtyřletém období mezi jednotlivými konferencemi podporovat organizování specializovaných symposií. Novým cílem byla snaha o koordinaci vzdělávání budoucích evropských radiochemiků. Prvním předsedou a zároveň tajemníkem WP byl zvolen Dr. A. Ware, zázemí i nadále poskytla RSC.

Další zasedání WP se konalo v roce 2002 v Londýně. V té době měla organizace patnáct členů a dva pozorovate-

le. Zásadním rozhodnutím zde učiněným bylo zapojit se aktivně do přípravy 1. Evropského chemického kongresu (ECC) FECS v Budapešti. Do organizačního výboru kongresu delegovala WP Dr. A. Wareho, členem vědeckého výboru kongresu pro oblast jaderné chemie byl jmenován prof. Jan John (ČVUT Praha).

V roce 2004 měla skupina již osmnáct oficiálních členů. Třináct z nich se zúčastnilo šesté konference NRC, která se pod záštitou FECS konala na přelomu srpna a září 2004 v Čáchách. Na tomto zasedání byl schválen předběžný program sympozia „Hot Topics in Nuclear and Radiochemistry“, jako součásti 1. ECC FECS.

Transformace na divizi při EuCheMS

V říjnu roku 2004, během přípravy kongresu FECS, došlo ke změně statutu FECS na mezinárodní neziskovou organizaci registrovanou jako právnická osoba podle belgického práva. Tato změna umožnila účinnější zapojení do mezinárodních projektů a lepší přístup k externím finančním zdrojům. Transformovaná organizace byla zaregistrována pod novým jménem – European Association for Chemical and Molecular Sciences – EuCheMS.

Další zasedání WP NRC se konalo v roce 2005 opět v Londýně. Nejdůležitějším bodem této schůzky byla reakce na změnu postavení odborné skupiny po přeměně FECS na EuCheMS. Vzhledem k tomu, že – na rozdíl od FECS – ve statutu EuCheMS nebyla zakotvena existence odborných skupin (WP), rozhodli se přítomní zástupci národních chemických společností usilovat o přeměnu WP NRC na samostatnou divizi EuCheMS. Přípravu potřebných dokumentů, zejména statutu nové divize, se podařilo dokončit během jednoho roku, takže vznik nové divize (Division for Nuclear and Radiochemistry – (DNRC) byl schválen všeobecným shromážděním EuCheMS ještě v roce 2005.

Ve dnech 23.–31. srpna 2006 se v Budapešti konal 1. Evropský chemický kongres. Specializované sympozium „Hot Topics in Nuclear- and Radiochemistry“, které bylo jeho součástí, bylo velmi úspěšné. Program sympozia uvedlo pět vyzvaných přednášek:

1. Chemistry of New Elements (Heinz W. Gäggeler, Švýcarsko)
2. Radionuclides in the Environment (Heino Nitsche, Berkeley, USA)
3. Radiopharmaceuticals (H. H. Coenen, Jülich, Německo)
4. Chemistry of the Nuclear Fuel Cycle (Charles Madic, CEA, Francie)
5. Teaching of nuclear and radiochemistry in the modern age (Anthony R. Ware, Anglie)

Dále byly předneseny tři ústní příspěvky a proběhla úspěšná plakátová sekce; celkový počet příspěvků byl roven třiceti.

V průběhu kongresu se také konalo první plenární zasedání nové divize. Bylo schváleno definitivní znění statutu DNRC; předsedou byl zvolen A. Ware (UK) a ta-

jemníkem Dr. Simon Jerome (UK). Nejen z pohledu České společnosti chemické zásadním bylo rozhodnutí o způsobu zabezpečení požadavku, aby každá divize EuCheMS garantovala pořádání celoevropské konference ve své oblasti alespoň jednou za dva roky. Delegáti na zasedání rozhodli, že DNRC tento požadavek splní zastřešením dvou paralelních evropských sérií konferencí – výše zmíněné Nuclear and Radiochemistry (NRC), která se koná na různých místech v Evropě, a série mezinárodních Radiochemických konferencí (RadChem) organizovaných odbornou skupinou jaderné chemie ČSCH tradičně v Mariánských Lázních. Obě konference mají čtyřletou periodicitu s dvouletým vzájemným posuvem. Zařazení série RadChem do akcí zastřešovaných DNRC je velkým uznáním jak odborné úrovně konference, tak i předchozí aktivity ČSCH v ERA a WP NRC.

DNRC se dále rozhodla přímo navázat na aktivity bývalé Working Party FECS, tj. nadále vydávat zpravodaj, aktualizovat desetiletý kalendář akcí (10 year Conference/Symposium Calendar) na webových stránkách a koordinovat výuku mladých radiochemiků v Evropě. Již v následujících měsících se podařilo dohodnout spolupráci s ostatními divizemi EuCheMS, a to především s Divizí analytické chemie a Divizí chemie životního prostředí. Kontakt byl navázán i s externími organizacemi s podobným zaměřením (např. spolupráce s IAEA na celosvětovém průzkumu „Assessment of the teaching and applications in radiochemistry“).

Následující zasedání DNRC se sešlo v září roku 2007 ve švýcarském Davosu. Jeho hlavní náplní byly volby vedení divize. Předsedou DNRC se stal prof. Heinz Gäggeler (University of Bern a Paul Scherrer Institute, Villigen, Švýcarsko), funkci tajemníka na tříleté období přijal prof. John. Česká i švýcarská chemická společnost volbu svých zástupců do vedení DNRC podpořily a nové vedení divize začalo pracovat 1. ledna 2008.

Tyto výsledky byly pozitivně hodnoceny na posledním setkání DNRC, které se uskutečnilo v průběhu konference NRC7 – 7th International Conference on Nuclear and Radiochemistry 2008 v Budapešti. Členové jednali především o odborných aktivitách DNRC na léta 2010 až 2012. První příležitostí, kde se evropské radiochemici sejdou, bude již tradiční 16th Radiochemical Conference (RadChem 2010) pořádaná v dubnu 2010 v Mariánských Lázních. Členové DNRC se dále dohodli uspořádat seminář na 3. Evropském chemickém kongresu v září 2010 v německém Norimberku. Poslední akcí v uvedeném období bude další, v pořadí již osmá, konference NRC (NRC8), kterou v roce 2012 uspořádá univerzita Miláno. Důležitým rozhodnutím bylo navázat a rozšířit spolupráci s mimoevropskými organizacemi, zejména projednat možnost koordinace akcí s jaderně chemickými sekcemi ACS a Japonské chemické společnosti.

Důležitým pramenem informací o DNRC jsou webové stránky divize (www.euchems.org/Divisions/NRC), kde vychází zpravodaj a je pravidelně aktualizován kalendář odborných aktivit v oblasti jaderné chemie a radiochemie.

Zapojení ČSCH

Česká společnost chemická (ČSCH) již od konce 90. let usilovala o plnou integraci českých odborníků do evropských mezinárodních struktur a o co největší účast českých výzkumných týmů v mezinárodních projektech. Proto již při vzniku WP NRC v roce 1999 podpořila její založení a delegátem jmenovala předsedu odborné skupiny Jaderná chemie (OS JCH) při ČSCH, prof. Johna. Prof. John se aktivně účastnil a účastní práce WP NRC, její transformace i aktivit současné DNRC. Velkým úspěchem této činnosti je výše zmíněné začlenění mezinárodní konference Radiochemical Conference (RadChem) mezi akce zastřešované přímo DNRC EuChemS, kde se stala jedním ze dvou pilířů (spolu se sérií NRC) celoevropské

série jaderně-chemických konferencí. Mezinárodní uznání aktivity České společnosti chemické v DNRC se projevilo i ve volbě prof. Johna tajemníkem divize.

Podmínky pro tuto činnost byly zajištěny sérií grantů č. LA 1000/2000, 1P05LA263 LA09023, které udělilo MŠMT Českému vysokému učení technickému v Praze (jako nositeli) v rámci Národního programu výzkumu – dílčího programu „Programy mezinárodní spolupráce“ na podporu účasti zástupce ČSCH na práci WP NRC.

*Kateřina Čubová a Jan John, ČVUT v Praze – FJFI,
Břehová 7, 115 19 Praha 1*

*Anthony R. Ware, Environmental Energy Consultancy,
Avoncastle, South Lane, Sutton Valence, Maidstone,
Kent ME17 3AZ, UK*

Odborná setkání



IX. Pracovní setkání fyzikálních chemiků a elektrochemiků ve znamení tří výročí

Ve dnech 29. a 30. června 2009 se na Mendelově zemědělské a lesnické univerzitě konala konference – IX. Pracovní setkání fyzikálních chemiků a elektrochemiků (9th Workshop of Physical Chemists and Electrochemists). Letošní setkání bylo ve znamení tří významných výročí: 90 let založení Masarykovy univerzity, 90 let založení Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity a 50leté výročí udělení Nobelovy ceny profesoru Jaroslavu Heyrovskému za fyzikální chemii, konkrétně za objev polarografie. Záštitu nad touto konferencí poskytl rektori obou univerzit (prof. Ing. Jaroslav Hlušek, CSc. a prof. PhDr. Petr Fiala, Ph.D., LL.M.) a děkani příslušných fakult, doc. RNDr. Milan Gelnar, CSc. z Přírodovědecké fakulty MU a prof. Ing. Ladislav Zeman, CSc. z Agronomické fakulty MZLU.

K důstojné oslavě 50 let udělení Nobelovy ceny přispěly pozvané přednášky Dr. Michaela Heyrovského, prof. Roberta Kalvody, prof. Emila Palečka a prof. Oldřicha Dračky, kteří s panem profesorem Heyrovským úzce spolupracovali a vědeckou veřejnost, jak formou přednášek, tak formou publikací, o výsledcích z oblasti polarografie a jejich aplikací společně informovali. Každoročně jsou v českých zemích i v zahraničí pořádány konference, které neustále čerpají ze základů elektrochemie spojené s Jaroslavem Heyrovským. Jeho přínos v oblasti teoretické a experimentální elektrochemie, elektroanalýzy, elektrochemie a bioelektrochemie stále oceňují vědci celého světa a díky poslednímu výzkumu a vývoji elektrochemic-

kých senzorů a biosenzorů dokonce mnohem více než v uplynulých 30 letech.

Plenární přednášky se zabývaly odkazem profesora Heyrovského, který nám nezanechal jen odkaz pracovitosti, houževnatosti a preciznosti, ale i pečlivosti a tvořivosti ve vědeckém bádání. V čem spočívá kouzlo, jímž se stává bádání tvůrčím procesem? Profesor Heyrovský dává na tuto otázku zcela jednoduchou odpověď – ve schopnosti poznat, co je důležité a co podružné. Jak se mohli účastníci konference dozvědět, prof. Heyrovský kladl vždy velký důraz na experiment, který otevírá cestu k poznání a toto poznání otevírá cestu k pokroku. V přednáškách se několikrát objevilo jeho letité vědecké heslo Pracuj, dokonči, zveřejni (Work, finish, publish), které je v tomto pořadí aktuální dodnes. Jedna přednáška se zabývala tím, že by nemělo být toto pořadí zaměňováno a publikována nedodělaná, neúplná, nedokončená práce.



Jaroslav Heyrovský přebírá Nobelovu cenu (1959) od švédského krále Gustava Adolfa VI.



Heyrovský a jeho syn Michael při oscilopolarografickém experimentu

Součástí pracovního setkání i v letošním roce byla Sekce mladých, ve které studenti v anglickém jazyce prezentovali a v diskusních příspěvcích obhajovali výsledky své vědecko-výzkumné práce. Jejich vystoupení hodnotila pětičlenná komise a ta rozhodla o pořadí tří nejlepších. Na post nejvyšší vystoupila Mgr. Šárka Bidmanová (Loschmidtovy laboratoře, Ústav experimentální biologie a NCBR, Přírodovědecká fakulta MU) s prací: Fiber-optic Biosensor for Detection of Halogenated Compounds in the Environment. Diplom a věcné dary za druhé místo putovaly do Bratislavy díky Ing. Jánovi Rimarčíkovi (Ústav fyzikální chemie a chemické fyziky, Slovenská technologická univerzita) a jeho práci: Thermodynamics of N–H Bond Cleavage in *p*-Phenylenediamine and Tetracyano-*p*-phenylenediamine. Třetí místo obsadil Ing. Radim Hrdý (Ústav mikroelektroniky, FEKT, VUT Brno) s prezentací na téma: Fabrication of Nanomachined Surface for Electrochemical Sensing Transducer.

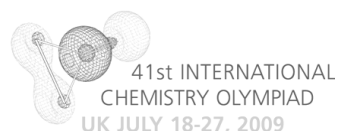
Podobně byla hodnocena i posterová sekce, kde první a druhé místo obsadili postgraduální studenti z Ústavu chemie a biochemie, MZLU Brno, RNDr. Vojtěch Adam a Ing. Dalibor Húska s pracemi: 1) Elektrochemická analýza adiponektinu pro tvorbu cévních náhrad a 2) Miniaturizované elektrochemické systémy v detekci interakce protinádorových léčiv s DNA. Třetí příčku obsadila práce RNDr. Zdenky Balcarové, CSc. (Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta, MU): Redukční proces guaninu a 8-azaguaninu.

Dvoudenní úspěšné jednání s bohatou diskusí nastínilo mnoho podnětů i nových nápadů, které mohou vést k dalšímu rozvoji započatých témat v oblasti fyzikální chemie, elektrochemie a bioelektrochemie. A to byl hlavní záměr tohoto setkání. Tak jako nikdy nekončí vědecko-výzkumná práce a stále se v ní pokračuje, tak bychom rádi v roce 2010 pokračovali již v jubilejním desátém ročníku.

Organizátoři konference děkují za podporu, která umožnila pořádat letošní IX. Pracovní setkání fyzikálních chemiků a elektrochemiků: Anamet, DonauLab, Ecochemie, Eppendorf, Laboserv, Malé centrum, Maneko, Merci Pragolab, Ranadal a Česká společnost chemická (brněnská pobočka).

Libuše Trnková, René Kizek

41. ročník Mezinárodní chemické olympiády 18. – 27. 7. 2009, Cambridge, Velká Británie



Letošní 41. ročník Mezinárodní chemické olympiády (IChO) hostilo Spojené království. Poněkud netradičně se organizace ujaly hned dvě starobylé univerzity, v Cambridge a v Oxfordu. Tyto dvě školy jsou odepaměti velkými rivaly, nicméně pro zorganizování prestižní soutěže středoškoláků z celého světa spojily své síly. Na dobu 18. – 27. 7. 2009 se do Cambridge sjelo celkem 250 studentů ze 66 zemí světa. Pro srovnání: prvního ročníku IChO, který se konal v roce 1968 v Praze, se účastnily pouze státy dnešní Vysegrádské čtyřky, tedy tehdejší Československo, Polsko a Maďarsko.

Sestavení reprezentačního týmu proběhlo tradičně ve třech stupních. Prvním stupněm bylo Ústřední kolo Chemické olympiády, výtečně zorganizované letos v lednu na Přírodovědecké fakultě UK v Praze. Prvních 14 studentů bylo pozváno na týdenní teoretické soustředění, které probíhá tradičně v březnu na VŠCHT Praha. Nejlepších 8 se dále na PřF UK účastnilo druhého, tentokrát praktického soustředění. Náročným výběrem nakonec prošli:



Český reprezentační tým před modelem vitamínu B₁₂. Nahoře zleva: Pavel Švec, Ondřej Hák, Jan Kotek, Petr Motloch, Ondřej Henych, dole zleva: Rudolf Píša, Petr Holzhauser

Ondřej Hák, student 1. ročníku Gymnázia a SOŠ v Hořicích

Ondřej Henych, student 3. ročníku Gymnázia v Liberci v Jeronýmově ul.

Petr Motloch, student 3. ročníku Gymnázia P. Bezruč ve Frýdku-Místku

Pavel Švec, student 3. ročníku Gymnázia Jírovcova v Českých Budějovicích

Spolu se studenty tvořili český tým ještě dva mentoři, vedoucí delegace RNDr. Petr Holzhauser z VŠCHT Praha a RNDr. Jan Kotek, Ph.D. z PŘF UK Praha.

Slavnostní zahájení proběhlo cambridgeském Corn Exchange za účasti přiměřeného množství významných osobností slovy: „Dlouho jsme přemýšleli, jak při zahájení představit anglickou kulturu, ale dospěli jsme k závěru, že žádná anglická kultura neexistuje“. Výsledkem byla nepřiměřeně dlouhá pantomima, v jejímž průběhu zazněly vhodně interkalované názvy všech 66 zúčastněných států.

Odpoledne mentoři zkontrolovali připravenost laboratoří a ke sklonku deštivého dne byli převezeni do Oxfordu. Zde ve starobylých prostorách zdejší univerzity tajně a v izolaci od studentů schválili a překládali praktické úlohy do národních jazyků. Studenti byli v té době seznámeni s bezpečnostními pravidly a pak celý den zakoušeli atmosféru anglického venkova, obdivovali sokolnické dovednosti, stříleli z luku a zakusili boj ve stylu středověké bitvy. Následující den studenti absolvovali praktickou část soutěže a mentoři si při exkurzi užili oxfordských uliček a připravovali finální znění teoretických problémů. Pátý den studenti čerpali duševní síly prohlídkou Londýna a Buckinghamského paláce, aby nazítří mohli řešit problémy teoretické části.

Od tohoto okamžiku nebyl důvod bránit kontaktu studentů a mentorů – slavnostní Reunion party proběhla vskutku v úchvatných prostorách londýnského Natural History Museum pod patnáctimetrovou krostou druhohorního dinosaura. Zbytek pobytu studenti strávili aktivním odpočinkem a poznáváním Anglie, mentoři opravili řešení svých studentů a spolu s autory dohodli konečné hodnoce-



S medailemi se smí šlapat i na anglický trávník v King's College

ni. Slavnostní vyhlášení výsledků proběhlo v příjemně svižném tempu v grandiózních prostorách kaple nejhonosnější koleje King's College.

Úlohy letošního ročníku byly nadmíru dobře připravené, jak obsahem, tak rozsahem. Teoretickou část tvořilo šest úloh, zmiňme např. syntézu HIV virostatika Amprenaviru, studium kinetiky tvorby molekulového vodíku v mezihvězdném prostoru či koordinační ohlédnutí za Alfredem Wernerem. Praxi tvořily tři úlohy – bezrozpouštědlová aldolová kondenzace, titrační analýza měďnatého komplexu a konduktometrické stanovení kritické micelární koncentrace surfaktantu. Soutěžní úlohy stejně jako přípravné úlohy je možné nalézt na stránkách www.icho2009.co.uk. Pro lepší představu o charakteru a náročnosti Mezinárodní chemické olympiády jednu ze jmenovaných úloh uvádíme.

Naši studenti i letos v soutěži obstáli a získali čtyři medaile:

Ondřej Henych, stříbrná medaile
Petr Motloch, bronzová medaile
Pavel Švec, bronzová medaile
Ondřej Hák, bronzová medaile

Absolutním vítězem soutěže se stal Ruibo Wang z Číny, přičemž čtyři zlaté medaile získal letos pouze Tchaj-wan. Následující 42. ročník Mezinárodní chemické olympiády se bude konat v japonském Tokiu.

Gratulujeme našim reprezentantům k dosažení výborných výsledků a věříme, že i příští ročník IChO bude pro Českou republiku úspěšný.

Petr Holzhauser, předseda ÚK ChO

Úloha č. 2 ze 41. IChO: Vznik H_2 mezi hvězdami

Pokud se v mezihvězdném prostoru srazí dva atomy, energie vzniklé molekuly je natolik velká, že molekula okamžitě disociuje zpět na atomy. Atomy vodíku tak mohou reagovat za vzniku stabilní molekuly H_2 pouze na povrchu prachových částic. Prachová částice absorbuje většinu přebytečné energie a nově vzniklá molekula H_2 se rychle desorbuje. V této úloze budou představeny dva kinetické modely pro vznik molekul H_2 na povrchu prachové částice.

V obou modelech je rychlostní konstanta adsorpce atomů H na povrch prachových částic $k_a = 1,4 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^3 \text{ s}^{-1}$. Typická hodnota „objemové hustoty“ atomů H (tj. počet atomů na jednotku objemu) v mezihvězdném prostoru je $[H] = 10 \text{ cm}^{-3}$.

(Poznámka: v této úloze můžete s počty povrchově adsorbovaných atomů a s objemovými hustotami atomů v plynné fázi počítat v rychlostních rovnicích stejně, jako jste běžně zvyklí počítat s koncentracemi. Díky tomu se vám jednotky rychlostních konstant mohou zdát divné. Rychlost reakce má pak rozměr počtu atomů nebo molekul za jednotku času.)

Vypočítejte rychlost adsorpce atomů H na povrch prachové částice. Předpokládejte, že je tato rychlost konstantní.

Desorpce atomů H je prvního řádu vzhledem k počtu adsorbovaných atomů. Rychlostní konstanta desorpce je $k_d = 1,9 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$.

Předpokládejte, že probíhá pouze adsorpce a desorpce. Vypočítejte rovnovážný počet atomů vodíku N na povrchu prachové částice odpovídající stacionárnímu stavu.

Atomy H se mohou po povrchu pohybovat. Když se dva atomy potkají, reagují za vzniku molekuly H_2 , která se následně desorbuje.

je. Diskutovány jsou dva různé modely vzniku H_2 . Oba však vycházejí ze stejných hodnot rychlostních konstant pro adsorpci, desorpci a bimolekulární reakci: $k_a = 1,4 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^3 \text{ s}^{-1}$, $k_d = 1,9 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, $k_r = 5,1 \cdot 10^4 \text{ s}^{-1}$.

Model A

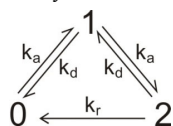
Předpokládá se, že reakce vzniku H_2 je druhého řádu. Rychlost úbytku atomů H z povrchu prachové částice v důsledku této reakce je tedy $k_r N^2$.

Napište výraz pro rychlost změny N zahrnující adsorpci, desorpci a reakci. Určete hodnotu N za předpokladu aproximace stacionárního stavu.

Vypočítejte rychlost vzniku H_2 podle tohoto modelu.

Model B

Model B umožňuje stanovit podíly prachových částic, které nesou 0, 1 nebo 2 atomy H. Vzájemné přeměny mezi těmito stavy vyjadřuje následující schéma. Předpokládá se, že částice nemůže zároveň nést více než 2 atomy H.



x_0 , x_1 a x_2 jsou podíly (procentuální zlomky) částic nesoucích 0, 1 nebo 2 atomy vodíku. S těmito podíly se dá v následující kinetické analýze počítat stejně jako s koncentracemi. Pokud je podíl částic s m adsorbovanými atomy vodíku x_m , lze rychlosti tří možných procesů vyjádřit takto:

Adsorpce ($m \rightarrow m + 1$): rychlost = $k_a [H] x_m$

Desorpce ($m \rightarrow m - 1$): rychlost = $k_d m x_m$

Reakce ($m \rightarrow m - 2$): rychlost = $\frac{1}{2} k_r m(m - 1) x_m$

Napište rovnice pro rychlost změny podílů x_0 , x_1 and x_2 (tj. výrazy pro dx_m/dt).

Za předpokladu aproximace stacionárního stavu odvoďte pomocí výše uvedených rychlostních rovnic výrazy pro poměry x_2/x_1 a x_1/x_0 a tyto poměry numericky vyčíslete.

Vypočítejte stacionární hodnoty podílů x_0 , x_1 a x_2 .

(Pokud jste neodvodili výrazy pro poměry v otázce f), použijte obecné hodnoty $x_2/x_1 = a$ a $x_1/x_0 = b$ a tuto otázku spočítejte pouze algebraicky.)

Vypočítejte rychlost vzniku H_2 podle tohoto modelu.

V současnosti není možné změřit rychlost této reakce experimentálně, nicméně nejnovější počítačové simulace poskytují rychlost $9,4 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$. Která z následujících tvrzení za těchto podmínek platí pro jednotlivé modely? Zaškrtněte příslušná políčka.

Tvrzení	Model A	Model B	Ani jeden model
Rychlost určující krok je adsorpce atomů H.			
Rychlost určující krok je desorpce molekul H_2 .			
Rychlost určující krok je bimolekulární reakce dvou atomů H na povrchu.			
Rychlost určující krok je adsorpce druhého atomu H.			
Předpoklad, že reakce probíhá nezávisle na počtu adsorbovaných atomů vede k podstatné chybě (s faktorem alespoň 2).			
Omezení počtu povrchově adsorbovaných atomů na 2 vede k podstatné chybě (s faktorem alespoň 2).			

Metody popularizace vědy, Olomouc 10. – 11. září 2009



Jedním z výstupů řešení projektu VÝZKUM NOVÝCH, MODERNÍCH NÁSTROJŮ A METOD POPULARIZACE VÝSLEDKŮ VĚDY, VÝZKUMU A VÝVOJE NA VYSOKÝCH ŠKOLÁCH V ČR VE SPOLUPRÁCI S VĚDECKOU SPOLEČNOSTÍ A ZPŮSOBY JEJICH UPLATŇOVÁNÍ V PRAXI (MŠMT 2E08023) byla konference odborníků, pro které je popularizace vědy pracovní náplní anebo ji dělají jako součást své pedagogické a výzkumné činnosti. Konferenci organizoval Projektový servis Univerzity Palackého v Olomouci jako řešitel projektu spolu s Českou společností chemickou jako spoluřešitelem. Konference se zúčastnilo 102 odborníků z České republiky. Jednání bylo rozděleno do 8 přednáškových bloků a plakátové sekce. První den konference byl zahájen představením projektu METPOPULI jeho řešitelkou Gabrielou Pokornou. Přednášející se zaměřila na jednotlivé dílčí úkoly projektu: (i) analýzu stávající situace v oblasti popularizace výsledků vědy, výzkumu a vývoje na vysokých školách a vědecko-výzkumných institucích v České republice a ve vybraných státech Evropské unie (Velká Británie, Německo, Itálie, Francie, Belgie), (ii) srovnání výsledků a (iii) vytvoření metodiky popularizace výsledků vědy a výzkumu. Ty byly řešeny v průběhu minulého a v letošním roce. Následující přednášky byly z důvodu odlišných nástrojů a metod popularizace v jednotlivých oborech rozděleny na bloky o hlavních popularizačních akcích a centrech popularizace vědy v ČR (Noc vědců v Plzni, Týden vědy a techniky organizovaný Akademií věd České republiky, Techmanie Plzeň, Academia film v Olomouci), prezentace popularizace vědy a výzkumu v oblastech zdraví, společenských věd, nových technologií a materiálů. Další tři bloky zahrnovaly informace o institucích, které se popularizací vědy profesionálně zabývají, úlohou medií a financováním popularizačních aktivit. Konference měla svůj hlavní význam v získání nových informací z oblasti popularizace vědy, porovnání osobních



zkušeností účastníků se zkušenostmi a názory přednášejících expertů, možnostmi financování popularizačních aktivit, představení příkladů z praxe a také seznámení účastníků s výsledky projektu METPOPULI. Každou přednášku doplnila bohatá diskuse, často polemizující s názory přednášejícího.

Organizátoři požádali účastníky o hodnocení (i) obsahové náplně, (ii) organizačního zajištění a (iii) celkové úrovně konference formou dotazníku. Vráceno jich bylo 71. Z 10 možných bodů byl první dotaz hodnocen 6,87 body, druhý 8,67 a poslední 7,77. Česká společnost chemická se připravuje na Evropský rok chemie v roce 2011. Zkušenosti z řešení projektu METPOPULI a poznatky z olomoucké konference jsou a budou pro účast Společnosti na této celoevropské akci cennými.

Helena Pokorná, Alena Vlková a Vilím Šimánek

Termická analýza v Tatrách

Ve dnech 30.8. až 3.9.2009 se v Zakopaném setkali příznivci termické analýzy a kalorimetrie, neboť se zde uskutečnil jubilejní 10. ročník „Conference on Thermal Analysis and Calorimetry“, který byl spojen s druhým ročníkem „Czech-Hungarian-Polish-Slovakian Thermoanalytical Conference“. Letošní ročník organizovala „Polish Society of Calorimetry and Thermal Analysis“, v jejímž čele stojí prof. Barbara Pacewska.

Na konferenci se sešlo téměř 150 účastníků z Polska, Česka, Slovenska, Maďarska, Ruska či Portugalska, kteří v přátelské atmosféře diskutovali o termické analýze v sedmi odborných sekcích, kde zaznělo celkem 50 přednášek a bylo vystaveno 90 plakátových sdělení, které byly zaměřeny na využití metod termické analýzy pro nejrůznější oblasti výzkumu.

Vedle odborných diskuzí měli účastníci konference možnost poznat nejen samotné Zakopané, ale také se kochat pohledem na polskou i slovenskou část Tater, neboť



Foto: společný výlet na Kasprový wierch

organizátoři zajistili nejen nádherné počasí po celou dobu konference, ale také výlet na Kasprový wierch (1985 m).

Přítom první společné setkání termoanalytiků ze „čtyř států“ uspořádala maďarská skupina v květnu 2007 (Sopron), které se uskutečnilo v rámci oslav 100. výročí založení Maďarské chemické společnosti. Další, v pořadí již třetí ročník, pak proběhne na Slovensku v roce 2011, který bude organizovat slovenská odborná skupina pro termickou analýzu a kalorimetrii.

Bohatá fotodokumentace z konference bude k nahlédnutí na webových stránkách OSTA (www.vscht.cz/ach/osta), kde zájemci o termickou analýzu mohou najít informace o dalších akcích z této oblasti. Nejbližší bude 62. sjezd chemických společností, který se uskuteční v Pardubicích a v rámci jeho programu bude zařazena sekce „Termická analýza a kalorimetrie“.

*Petra Šulcová,
předsedkyně Odborné skupiny termické analýzy ČSCH*

Akce v ČR a v zahraničí

rubriku kompiluje Lukáš Drašar, drasarl@centrum.cz

Rubrika nabyla takového rozsahu, že ji není možno publikovat v klasické tištěné podobě. Je k dispozici na webu na adrese <http://konference.drasar.com>. Pokud má některý čtenář potíže s vyhledáváním na webu, může se

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

Střípky a klípky o světových chemících

Wislicenus otec a syn

V organické syntéze se často používá vzájemné kondenzace esterů, při kterých vznikají estery 3-ketokyselin. Klasickým, školním příkladem je příprava acetoctanu ethylnatého z octanu ethylnatého účinkem kovového sodíku. Tuto syntézu jako první provedl a publikoval Anton Geuther (1833–1889) na univerzitě v Göttingenu roku 1863. Na Geutherovu práci navázali Johannes Wislicenus a později jeho syn Wilhelm, kteří studovali kondenzace esterů ostatních kyselin a též kondenzace esterů dvou různých kyselin. Příkladem je syntéza ethyl-benzoylacetátu $C_6H_5COOC_2H_5 + CH_3COOC_2H_5 \rightarrow C_2H_5OH + C_6H_5COCH_2COOC_2H_5$.

Johannes Wislicenus^{1,2} se narodil 24. 6. 1835 v Klein-Eichstedtu u Querfurtu, kde byl jeho otec evangelickým farářem. Rodina se čtyřmi dětmi se brzy přestěhovala do Halle. Zde Johannes vystudoval reálku a pokračoval na univerzitě. Přitom se doučoval latině, ale již v prvním semestru musel studium přerušit, protože jeho otec byl odsouzen do vězení za spis „Die Bibel im Lichte der Bildung unserer Zeit“ (1853). Otec ale uprchl do Anglie a pak se všichni přesunuli do New Yorku. Johannes přijal zaměstnání v laboratoři Harvardovy univerzity v Cambridgi. Po čase se vrátil do New Yorku a na jednom soukromém učilišti vyučoval chemii. Roku 1856 se Wislicenovi odstěhovali do Curychu. Zde měl pan Wislicenus privátní školu, Johannes mu pomáhal při výuce a při tom navštěvoval chemické přednášky na univerzitě, kde roku 1860 promoval. Po habilitaci na curyšské univerzitě získal roku 1864 mimořádnou profesuru. Působil na curyšské technice, potom na univerzitě ve Würzburgu a od roku 1885 v Lipsku jako nástupce Hermanna Kolbeho.

Vedle esterových kondenzací se Wislicenus věnoval studiu mléčných kyselin³ a rozlišení kyselin maleinové od fumarové (*cis*, *trans*-isomerie). Z jeho laboratoře pochází mimo jiné příprava cyklopentanonu (1889) – rozkladem vápenaté soli hexandiové, adipové kyseliny, jako základ sloučenin cyklopentanové řady.

Wislicenus – jinak silný kuřák – se v mládí věnoval gymnastice a po celý život hudbě. Ve Würzburgu byl členem akademického pěveckého kroužku. Oženil se roku

1860 s Kätchen Sattlerovou ze Schweinfurtu; měli čtyři syny a dvě dcery. Roku 1890 na lovu, tehdy módní zálibě, utrpěl úraz na noze, následkem kterého měl potíže s chůzí. Ani rodinný život nebyl bez ořesů. Roku 1889 zemřel syn Konrad na zánět slepého střeva a hned nato i syn Alwin. Brzy postihla smrt i profesorovy bratry: Hugo zahynul v Alpách, druhý bratr, armádní lékař, zemřel na tyfus. Paní Wislicenová byla dlouho v sanatoriu pro duševně choré, zemřela roku 1890 v Lipsku. Roku 1902 přestal Wislicenus ve svých 67 letech ze zdravotních důvodů přednášet, ale už koncem roku (5. 12. 1902) v Lipsku umírá.

Wilhelm Wislicenus⁴ se narodil 23. 1. 1861 v Curychu. Studoval na tamním gymnáziu a přírodní vědy a matematiku na univerzitách ve Würzburgu, Strassburgu a v Mnichově. Působil jako asistent u svého otce ve Würzburgu a od roku 1886 u Emila Fischera. Pod jeho patronací ve Würzburgu habilitoval a v období 1902–1922 byl profesorem na univerzitě v Tübingenu. Kromě studia esterových kondenzací se Wilhelm Wislicenus zabýval i anorganickou problematikou. Připravil např. azid sodný $NaNH_2 + N_2O \rightarrow NaN_3 + H_2O$.

Wislicenus se roku 1888 oženil s Margarethou Türschmannovou. Rodina se šesti dětmi obývala vilu s velkou zahradou v Schonungen am Main, paní Wislicenová zemřela roku 1934. Profesor rád jezdil na koni, i se svými dětmi. Pravidelně chodil do přírody a místní floru prý znal lépe než odborník. V okolí Tübingenu sbíral minerály. Wilhelm Wislicenus zemřel 8. 6. 1922 v Tübingenu na nádorovou chorobu.

LITERATURA

1. Beckmann E.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. 37, 4861 (1904).
2. Liebermann C.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. 35, 4244 (1902).
3. Fieser L. F., Fieser M.: *Organische Chemie*, str. 82. Verlag Chemie, Weinheim 1965.
4. <http://www.wislicenus.info>, staženo 1.6.2009.

Miloslav Ferles in memoriam, Eva Mašková

Zprávy

Konference Distillation and Absorption 2010

Ve dnech 12. až 15. září 2010 se na Technické Univerzitě Eindhoven uskuteční již tradiční konference Distillation and Absorption, pořádaná každé čtyři roky pracovní skupinou „Fluid Separations“ Evropské federace chemického inženýrství. Hlavními tématy setkání pod hlavičkou „Carbon Dioxide Mitigation by Energy Efficiency“ budou

separační procesy, od získávání základních dat až po konkrétní průmyslové aplikace. Konferenci bude možné také využít jako místa pro prezentaci firem působících v oboru.

Konferenční příspěvky bude možné zasílat do 1. října 2009, stejně tak jako přihlášky do soutěže o nejlepší doktorskou disertační práci. Více informací naleznete na stránkách konference www.da2010.nl.

Tento příspěvek byl financován grantem MŠMT Ingo LA320.

*Magdalena Bendová,
členka vědecké komise konference*

80 let brněnské pobočky ČSCH

Dne 26. ledna 2009 uplynulo 80 let od založení brněnské pobočky České společnosti chemické. Při této příležitosti sestavili pánové prof. Jaroslav Janák a Dr. Adolf G. Pokorný pamětní spis, který na ploše zhruba 60 stran podává přehled historie i současnosti brněnské pobočky ČSCH a biografické portréty jejich představitelů. Výsledný přehled má vysokou historicko-dokumentační hodnotu. Vedle toho je však v dnešní uspěchané a leckdy povrchní době užitečný i jako připomínka toho, že nic nevzniká „samospádem“, bez vložené námahy, času a zaujetí.

Nákladem 360 výtisků vydala tento pamětní spis Česká společnost chemická s podporou Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity, Fakulty chemické Vysokého učení technického v Brně a Ústavu analytické chemie AV ČR, v. v. i. Tištěná verze (ISBN 978-80-86238-69-2) je dostupná ve vědeckých knihovnách. Elektronická verze (formát pdf) je pro zájemce vystavena ke stažení na informačním portálu brněnské pobočky ČSCH (<http://csch.chemi.muni.cz>, nabídka „Archív“).

Michal Roth

Klastr MedChemBio

Počátkem roku 2009 byl založen klastr MedChemBio jako Zájmové sdružení právnických osob. Cílem práce sdružení MedChemBio je pomáhat rozvoji oborů medicínální a biologické chemie v České republice a to především ve fázi přechodu ze základního výzkumu do technologického a komerčního uplatnění. Jak napovídá název i zaměření, budou hlavním předmětem jeho činnosti malé, syntetické molekuly a chemická biologie, tedy látky, které mohou být použity pro humánní a veterinární medicínu a diagnostiku.

Význam klustru spatřujeme především v úzkém propojení mezi akademickou sférou (členy klustru jsou Univerzita Palackého v Olomouci a Ústav organické chemie a biochemie, AV ČR, v.v.i.), malými a středními firmami (Farmak, Quinta Analytica, Bioapex, Biopatens, Circle Line Associates, Mendel Therapeutics, MD Pharma, AB Pharma a další) dodavatelskou sférou (Merck) a odbornými společnostmi (ČSCH, ČSBMB). Díky skutečně neformálnímu kontaktu, který tyto subjekty navázaly, probíhá spolupráce na společných projektech. Klastr má nyní celkem 21 členů a je otevřen pro další subjekty, které o spolupráci na rozvoji uvedených oborů mají zájem.

Klastr obdržel podporu od agentury CzechInvest, která umožní rozjezd samotného fungování klustru a jeho spolkovou činnost, ale především umožní realizaci čtyř velkých projektů.

Prvním projektem je Systém pro řízení projektů výzkumu a vývoje léčiv v režimech GMP GLP, GCP. Cílem projektu je podpořit výzkumné, vývojové, výrobní a kontrolní aktivity členů klustru v oblasti vývoje léčiv v post-discovery fázi. Participující členové vytvoří společnou jednotku – centrum pro systém řízení jakosti GMP/GLP, služby Regulatory Affairs a poradenství/řízení projektů v předklinické a rané klinické fázi. V rámci projektu budou také vybaveny a certifikovány vzorové laboratoře UP, přednost bude dána technikám, které jsou v GMP/GLP režimech obtížně dostupné (NMR, XRD). Ostatní členové budou moci za výhodných podmínek využívat jak poradenských služeb při zavádění systému jakosti, řízení svých projektů, zpracování GMP dokumentace i v poradenství pro předklinické a rané klinické fáze vývoje. Kromě toho budou moci využívat služby laboratoře(i), certifikovaných v rámci projektu.

Dalším projektem je Pracoviště pro molekulární diagnostiku. Tento projekt podpoří výzkumné aktivity členů klustru při výzkumu a vývoji molekulárních diagnostik na bázi polymerázové řetězové reakce v reálném čase a proteomiky. Tyto diagnostika v dnešní době pronikají to rutinní diagnostické praxe v oblasti nádorových, infekčních a dalších onemocnění. Z těchto důvodů se trh s diagnostiky stává mimořádně zajímavou oblastí biofarmaceutického průmyslu, která je regulačně výrazně jednodušší než oblast farmaceutik. Pracoviště se zaměří na studium, výzkum a vývoj molekulárních diagnostik, zejména v oblasti nádorových onemocnění. Zavede příslušné metody počínaje přípravou vzorků, konče kvalitativním nebo kvantitativním vyhodnocením amplifikační reakce a hmotnostně spektrometrickou analýzou technikou LC-MALDI.

Třetím hlavním projektem je Pracoviště pro syntézu, izolaci a výrobu chemických sloučenin. Projekt bude zaměřen na výzkum nových syntetických postupů pro přípravu a izolaci komerčně zajímavých chemických sloučenin a postupů umožňujících převod laboratorní syntézy do poloprovozního měřítka, dále se bude zabývat nabízením služeb týkajících se predikování vlastností látek a návrhem struktur vhodných pro požadované aplikace.

V oblasti syntézy se bude jednat o laboratorní přípravu nových produktů, které v sobě skrývají komerční potenciál, tak o látky, které na trhu již existují, ale jejich současný způsob přípravy je komplikovaný nebo z pohledu ekonomického či na základě regulačních nařízení silně omezující. Dále bude projekt zahrnovat nabídku syntézy organických sloučenin ve čtvrtprovozním měřítku, čímž bude vytvořena možnost dostupnosti rozličných intermediátů pro nejrůznější aplikace. K dispozici bude rovněž sofistikované vybavení pro separaci látek z nejrůznějších směsí, jejich izolaci, identifikaci a stanovení zastoupení jednotlivých složek. To mohou členové klustru využít k analýze materiálů, se kterými pracují v oblasti výzkumné či obchodní. Členové klustru mohou rovněž využívat znalostí

členů projektu ke konzultacím o perspektivě vývoje či zavádění nových chemických výrobků na trh, což by mělo zefektivnit jejich činnost a lépe zacílit na portfolio svých produktů a aktivit.

Na projektu se budou podílet instituce, které mají dlouholeté zkušenosti v oblasti syntézy organických látek v laboratorním i provozním měřítku, jakož i v obchodní činnosti.

Řešení projektu má za cíl poskytnout členům klastru kvalitní a cenově dostupné zázemí pro syntézu, izolaci a komercializaci organických sloučenin.

Posledním plánovaným projektem pro první období je Elektronická terminologická databáze a systém zpracovávání překladů. Během tří let vytvoří klaster specializovanou jazykovou databázi a zformuje skupinu odborných konzultantů. Vypracuje a zavede systém pro řízení efektivity a kvality zpracovávané dokumentace (autor > manager > překladatel > korektor > konzultant/validátor > DTP). Databázi Klaster MedChemBio v různých formách uplatní na trhu. Jednotliví členové klastru budou moci databázi i softwarové vybavení využívat pro překlady vlastními silami i pro zadání závazné terminologie pro externě zpracovávané překlady. Budou to překlady grantových aplikací, výrobní dokumentace, produktové dokumentace (data sheets), odborných článků a sdělení, webových stránek,

reklamních materiálů a dalších odborných publikací vydávaných s podporou klastru. Efektivně spolupracující validátoři, konzultanti a překladatelé využívající software specializovaný na správu terminologie a udržení konzistentnosti překladu docílí nesrovnatelně vyšší kvality překladů oproti překladům zpracovávaným běžným způsobem.

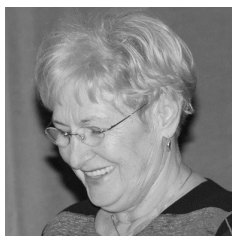
Strategie klastru podporuje celé odvětví, které v České republice nemá nyní společnou platformu pro kontakty a spolupráci. Strategicky se klaster snaží vybudovat strukturu, která by nabízela kontinuální podporu jak členům klastru, ale i novým subjektům a celkově by umožnila nový rozvoj dané vědecko-technické oblasti a v regionu.

MedChemBio bude především pomáhat začínajícím firmám v daném oboru v úspěšném rozvoji jejich projektů. Díky soustředění jak přístrojového vybavení, tak lidského potenciálu, je možné provádět výzkum daleko efektivněji, než v izolovaných laboratořích. Důležitou součástí práce klastru bude výměna informací a propagace oboru v České republice.

Více informací o klastru MedChemBio naleznete na www.medchembio.cz

Martin Fusek a Marián Hajdúch

Osobní zprávy



Jitka Macháčková oslaví jubileum

Mgr. Jitka Macháčková se zařadí do nekončící řady chemických jubilarů. U dam se o věku nehovoří, ale každý, kdo se s Jitkou setká, neuhodne, která dekáda přichází v úvahu. Její elán, charisma a pracovní nasazení ji neopouštějí ani na chvíli. Jitku Macháčkovou jsem poznal v legendárním přírodovědném oddělení „Ústředního domu pionýrů a mládeže Julia Fučíka“ v pražské Grébovce, kde spolu s další veteránkou přírodovědného vzdělávání dětí a mládeže Marcelou Novotnou vedly mj. kroužky mladých chemiků. Z této práce se odvinul fakt, že přes nejrůznější soutěže, setkávání a další akce stály tyto dvě osobnosti české chemické pedagogiky i u základů, na svoji dobu odvážné akce, Chemické olympiády již v šedesátých letech minulého století. Tehdy nikdo neočekával, že se Chemická olympiáda stane nejen celostátní, posléze lidodemo-mezinárodní a nakonec i skutečně globálně internacionální akcí. Z chemické olympiády vzešla elita chemické inteligence, a to u nás i v zahraničí. Je typické pro tuto dobu i pro tuto zemi, že na zásluhu tohoto typu je snadno zapomenuto. Chemické listy jsou zde však, mj. i od toho, aby se tak stávalo co nejméně.

Život Jitky Macháčkové byl plný činorodé práce. Po

dlouholeté práci v UDPMJF odešla na podobně záslužné redaktorské místo do časopisu Věda a technika mládeži, kde pracovala řadu let. Dnes je velmi aktivní předsedkyní Ústřední komise Středoškolské odborné činnosti a předsedkyní správní rady Nadačního fondu Jaroslava Heyrovského. Stále se věnuje propagaci Chemické olympiády a neúnavně se stará o mladé přírodovědné podhoubí našeho badatelského i produkčního světa. Dlouhá léta byla členkou ČSCH.

Do dalšího čilého působení ve všem, co jí baví a zajímá, jí lze popřát pouze zdraví, štěstí a spokojenost. O ostatní se Jitka postará, jak ji znám, sama.

Pavel Drašar



Prof. Berek šedesátníkem

V říjnu tohoto roku dovršil šedesátku prof. RNDr. Jiří Berek, CSc., vedoucí katedry analytické chemie Přírodovědecké fakulty UK Praha, hospodář České společnosti chemické a zasluhující redaktor Chemických listů. Katedře analytické chemie PřF UK byl prof. Berek věrný celý život, postupně zde vypracoval diplomovou a doktorskou práci, habilitoval se a byl jmenován profesorem. Na studium a rozvoj elektroa-

nalytických metod ho kdysi nasměroval jeho školitel prof. Berka, a této tematice se prof. Berek věnuje dosud. Za svoji dosavadní kariéru publikoval více než 250 prací v impaktovaných časopisech a o jeho odborném renomé svědčí desítky „invited lectures“ na významné mezinárodní konference. Svoje doktorandy a diplomanty posílá studovat do zahraničí a naopak o studium v jeho Laboratoři je v zahraničí zájem. Cestovatelská aktivita prof. Barka je velmi intenzivní, což přináší celosvětové kontakty a zvyšuje prestiž pracoviště. Prof. Berek je nejenom skvělý odborník, ale také organizátor řady konferencí a jiných odborných akcí. Stejně tak je jeho jméno známé ve firmách zabývajících se laboratorní analytickou technikou, což se promítá do špičkového vybavení jeho pracoviště.

Měl jsem a mám možnost sledovat kariéru Jirky Barka a jeho současné pracovní i mimopracovní aktivity a zájmy velmi podrobně, jako jeho někdejší spolužák, kolega v práci, spoluredaktor Chemických listů, kamarád a rodinný přítel. U starších pánů nebývá zvykem komentovat jejich tělesnou kondici, ale u Jirky je obdivuhodná, protože si ji udržuje každodenním nošením neuvěřitelně těžké tašky, jejíž obsah neukazuje. Snad o tom ví více jeho životní partnerka, Dr. Marcela Krečmerová, vynikající organická syntetička a blízká spolupracovnice prof. Holého, se kterou vychovává dvě krásné a nadané děti, Jirku a Terezu. Rodinu ještě doplňuje zlatý retrívr Denýsek. Na Jirku bylo vždy spolehnutí, dané slovo plní s precizností sobě vlastní. To ho přímo předurčuje k funkci hospodáře České společnosti chemické, jejíž finance svědomitě spravuje a rozmnožuje a za to mu patří dík nás všech. V redakčním kruhu Chemických listů je oblíbeným společníkem, nezakazí žádnou legraci a svojí životní zkušeností je nám v mnohém příkladem a inspirací. Pokud vím, tak Jirka není posedlý žádným koníčkem, ale rád lyžuje, jezdí (il) na vodu, chodí po horách a občas přiloží i ruku k dílu na své chatě v Chrástu nad Sázavou, kde s rodinou tráví volný čas. Ze společných konferencí ale vím, že na můj vkus až příliš brzo ráno vstává a chce si povídat, kdy neúnavně rozebírá pracovní témata.

Jsem rád, že jsem kdysi dávno potkal Jirku Barka a že se stal mým kamarádem a spolehlivým přítelem a že udržujeme plodné pracovní i mimopracovní kontakty.

Takže kámo, všechno nejlepší, hlavně zdraví a dlouhá léta !

Bohumil Kratochvíl

Profesor Oldřich Fischer

Cena VB (Viléma Baura) je udělována významným učitelům všech typů škol za přínos k výuce chemie. Jsem toho přesvědčen, že profesor Oldřich Fischer takovým významným vysokoškolským učitelem oboru fyzikální chemie skutečně je.

V příštím roce se pan profesor dožije 85 let. I v tomto vysokém věku se intenzivně zajímá o vědecký výzkum na Přírodovědecké fakultě Masarykovy univerzity v Brně. Aktivně se zapojuje do vědeckých diskusí na seminářích

pořádaných chemickými a biologickými ústavu, je aktivním členem všech každoročně pořádaných Pracovních setkání fyzikálních chemiků a elektrochemiků a chemických konferencí pořádaných Českou a Slovenskou chemickou společností. Hnán motorem svého zaujetí pro vybranou disciplínu a ctížádostí maximálně skloubit teoretickou a experimentální část výzkumu, zařadil se profesor Oldřich Fischer mezi velmi známé fyzikální chemiky nejen v řadách výzkumných pracovníků a vysokoškolských učitelů, ale i v řadách studentů. Byl velmi přísným pedagogem a ne všichni studenti jeho fyzikálně-chemickým sitem prošli. Profesor Fischer dlouhá léta přednášel kurz základní fyzikální chemie, kurz pokročilé fyzikální chemie, která se týkala statistické termodynamiky a elektrochemie. Výrazně se podílel na modernizaci výuky fyzikální chemie a formou inovací skript „Laboratorní cvičení z FCH“ obohatil náplň praktických úloh o nové fyzikálně-chemické přístupy. Skripta, vydaná v období 1980–1990, Statistická termodynamika (úvod do studia), Vybrané kapitoly z fyzikální chemie (pro odborné chemiky), Nerovnovážné soustavy (spolu s prof. I. Kučerou) a kniha Fyzikální chemie (učebnice pro studium učitelství) byly na tehdejší dobu důležitým přínosem ve formování profilu absolventa. Za léta svého působení na Katedře teoretické a fyzikální chemie (vedoucím katedry do roku 1991) odvedl velký objem práce. Zabýval se ionikou i elektrodikou, rozvíjel moderní elektrochemické metody zkoumání roztoků elektrolytů i kinetiky elektrodo- vých procesů. Vychoval velkou spoustu diplomantů a doktorandů.

A proč zrovna elektrochemii? Jeho zájem o ni se začal projevovat již v období zpracování disertační práce v r. 1950 (Elektrolytické vylučování zinku z roztoků kyseliny fosforečné). Je třeba si uvědomit, že v té době díky prof. Heyrovskému elektrochemie, jako součást fyzikální chemie, prodělávala obrovský „boom“ a právě brněnská skupina FCH patřila vedle pražské skupiny elektrochemiků při Ústavu FCH a ELCH Jaroslava Heyrovského mezi nejznámější elektrochemická pracoviště v Československu. Jeho výzkum, často podporovaný jeho manželkou doc. Evou Fischerovou, byl orientován především na polarografické studium anorganických komplexů, na studium chemických reakcí při galvanostatické elektrolýze, na sledování iontových asociačních rovnováh v nevodných prostředích a na rozvoj fyzikálně-chemických metod při čištění odpadních vod. Z těchto výzkumů vzešlo celkem 56 prací, z valné části publikovaných v Collection, což byl pro tehdejší dobu časopis přístupný české vědecké komunitě s možností publikovat v cizím jazyce. Po revoluci publikuje prof. Fischer společně se svojí manželkou 2 monografické celky: Basic principles of voltammetry, a Voltammetric methods for the investigation of chemical reactions in „Experimental Techniques in Bioelectrochemistry. (ed. V. Brabec, Birkhauser, Basel 1996).

Profesor Fischer byl vždy zainteresován na vývoji FCH metod, které sám velmi rád experimentálně testoval. Měl vždy snahu popsat dané experimenty pomocí teoretických modelů, měl vždy snahu verifikovat navržený model

pro daný experiment. Jinými slovy zastával a zastává myšlenku objasnit více, než se objevovalo v uvedeném tvrzení: Teorie znamená, že víme všechno, ale nic nefunguje; praxe znamená, že funguje všechno, ale nikdo neví proč. On se vždycky staral o to, abychom věděli proč.

Libuše Trnková

Prof. O. Ficher byl v roce 2002 děkanem přírodovědecké fakulty MU jmenován emeritním profesorem.

Již během svého studia na přírodovědecké fakultě MU (chemie-fyzika) pracoval jako pomocná vědecká síla na ústavu teoretické a fyzikální chemie MU, po ukončení studia (1950) se stal asistentem a vědeckým aspirantem. V letech 1954–1960 působil jako odborný asistent na fyzikálně analytické katedře farmaceutické fakulty MU Práce na téma „Studium kinetiky elektrodoých dějů pomocí elektrolýzy s konstantním proudem“ obhájena 1958 v Polarografickém ústavu AV v Praze a od roku 1961 se datuje jeho odborná kariéra na katedře teoretické a fyzikální chemie MU (tehdejší UJEP), 1963–1979 docent pro obor teoretické a fyzikální chemie Chronopotenciometrické studium kinetiky elektrodoých dějů (1962), 1980–1991 profesor soubor 5 sdělení: Asociační konstanty iontových párů ve směsných prostředích. Disertace k DrSc: Reakce a rovnováhy ovlivňující elektrodoý děj obhájena před komisí pro obor fyzikální chemie 1979 a schválena rektorem VŠCHT Praha 1980. 1969–1991 vedoucí KTFCH, MU Brno.



Osmdesátiny prof. RNDr. Miloslava Černého, DrSc.

Připadá mi to jako chvíle, kdy jsem na stránkách tohoto listu psal gratulaci prof. Černému k 75. narozeninám. K radosti všech spolupracovníků a blízkých se za těch pět let mnoho nezměnilo – prof. Černý je stále pln elánu a neutuchajícího zájmu o chemii. Rád bych při příležitosti blížícího se jubilea připojil kromě gratulace i několik životopisných údajů.

Narodil se a vyrůstal v Praze na Starém městě. Po úspěšném absolvování reálného gymnázia vystudoval Přírodovědeckou fakultu Karlovy Univerzity, v roce 1953 získal titul RNDr. Disertační práce, jejímž školitelem byl tehdejší asistent Václav Horák, se zabývala chemií sirných heterocyklů. Byl prvním vědeckým aspirantem katedry organické chemie, titul CSc. získal v roce 1956. Po ukončení aspirantury se spolu s J. Pacákem a J. Staňkem již věnoval chemii sacharidů. První cukerné práce se týkaly přípravy 3-deoxyglukosu, pak následovala série prací na téma thiocukry a od začátku 60. let byla ústředním tématem chemie 1,6-anhydrocukrů. Právě v této oblasti sacharidové chemie lze spatřovat těžiště vědeckého působení oslavencova, spolu s četnými diplomanty a doktorandy zmapoval detailně chemii levoglukosanu. Několik slouče-

nin se stalo téměř univerzálními výchozími látkami pro další syntézy. V cukerné literatuře se vžil termín Černý epoxide, jak je možné se přesvědčit zadáním tohoto hesla do vyhledávače.

Profesor Černý je autorem a spoluautorem více než 120 původních prací, 5 přehledných článků v *Advances in Carbohydrate Chemistry* a dalších významných kompendiích. Za mimořádný přínos je možné označit i spoluautorství monografií *Monosaharidy* a *Oligosaharidy* (spolu s J. Staňkem, J. Pacákem a J. Kocourkem), které později vyšly v anglickém překladu. Zvláště první z uvedených knih se stala neodmyslitelnou součástí všech cukerných pracovišť. V nedávno vyšlé knize R. V. Sticka, *Carbohydrates: The sweet molecules of life*, autor v seznamu použité literatury uvádí na prvním místě *Monosaharidy*, které označuje jako „The Bible of carbohydrate chemists“.

Bylo by ale nespravedlivé zdůrazňovat pouze vědecké zásluhy M. Černého; stejně úspěšně si vedl i jako pedagog. Na katedře organické chemie, kde po celou svou kariéru působil, vždy dbal o vysokou úroveň přednášek. Podílel se na zavedení výuky stereochemie, reakčních mechanismů, semináře „Pokroky v organické chemii“ a fotochemie. Ve výuce se opíral o své mimořádné znalosti organické chemie. Jako školitel diplomantů byl velmi oblíben a práce, jejichž školitelem byl M. Černý, měly vždy vysokou úroveň. Řadu let obětavě pracoval jako člen komise pro Chemickou olympiádu.

V minulých letech vykonával i řadu organizačních funkcí na fakultě i mimo ni – např. pracoval jako předseda *European Carbohydrate Organization*, byl členem redakční rady časopisu *Carbohydrate Research*, na fakultě působil dvě období jako proděkan, je čestným členem České společnosti chemické a společnosti Jana Evangelisty Purkyně. Je nositelem Hanušovy medaile a několika fakultních a univerzitních ocenění.

Rád bych tímto příspěvkem poděkoval profesoru Černému za vše, co pro své žáky, mezi něž se také počítám, udělal. Byl pro nás vždy příkladem nadšeného vědce, obětavým školitelem i životním vzorem. Jsem nesmírně rád, že jsem spolu s prof. M. Černým prožil více než 40 let společné práce na katedře organické chemie. Rád bych panu profesorovi Černému do dalších let popřál stále zdraví, hodně pohody a zájmu o chemii.

Tomáš Trnka

Milovi Černému k 80

Když jsem před 50 lety v rámci své aspirantury začal pozorněji sledovat literaturu v oboru cukerné chemie, jméno „Miloslav Černý“ se mi velmi brzy zakotvilo v paměti jako jméno autora či spoluautora zajímavých publikací s originálními řešeními syntetických problémů, spolehlivým popisem pokusů a přesnou prezentací dat. Toto kladné poznání se ještě prohloubilo po vydání monografie Staněk, Černý, Pacák, Kocourek: *Monosaharidy*, která se nejen pro mou generaci stala základní učebnicí cukerné chemie. Tato šťastná kniha, která úspěšně zaplnila mezeru

v dostupných publikacích svého druhu, se vyznačovala moderním pojetím a zejména zpracováním velmi čerstvých informací, nejen o syntéze, ale také o struktuře a stereochemii cukerných látek. Výtisk její české verze z roku 1960 mám v knihovně stále při ruce a nese zřetelné stopy velmi častého používání. Dílu se dostalo v pozdějším anglickém rozšířeném vydání zaslouženého uznání mezi cukernými chemiky snad v celém světě.

Se spoluautorem této knihy, dr. M. Černým, jsem měl brzy čest se osobně seznámit na konferencích, při oponentních řízeních či obhajobách, v nedávné době i ve spolupráci na českém překladu cukerného názvosloví. Poznal jsem ho tak blíže nejen jako vynikajícího odborníka, s nímž jsou diskuse vždy velmi podnětné, ale také jako noblesního člověka, jehož přátelství si nesmírně vážím.

Milý Milo, všechna slova díky za Tvůj přínos chemii, za Tvoje pedagogické úsilí i za Tvůj osobní lidský vklad mi v této chvíli připadají nedostatečná. A tak raději než děkujícím za minulost chci být blahopřejícím k budoucnosti. Tvůj život je i ve vysokém věku pozhánán uspokojivým zdravím a neutuchající bystrostí ducha. Co Ti přát více, než aby tomu tak bylo i nadále a ještě dlouho?

Karel Kefurt

Prof. Ing. Vladimír Mareček, DrSc. se potká s pětadesátkou

Toto setkání se uskuteční 30. listopadu tohoto roku a zastihne jubilanta zcela pohlčeného prací, jak vědeckou, tak organizační. Vladimír se narodil v Tursku, nedaleko Prahy, na rodinném statku. V roce 1961 maturoval na gymnáziu Jana Nerudy na pražské Malé Straně, kádrový profil si zlepšoval v letech 1961–1962 jako dělník v podniku Léčiva Praha a inženýrem se pak stal v roce 1967 na VŠCHT Praha. V roce 1968 ho jako vědeckého aspiranta zachytil Polarografický ústav ČSAV a již ho nikdy nepustil.

Za čtyři desetiletí Vladimír prožil s nynějším Ústavem fyzikální chemie J. Heyrovského, v.v.i., AV ČR, všechny odborné i společenské proměny a přes stupně vědeckého asistenta (1970), vědeckého pracovníka (CSc, 1972), vedoucího vědeckého pracovníka (1986) a ředitele ústavu (1993–2000), dospěl k současné funkci zástupce ředitele ústavu a vedoucího skupiny biofyzikální chemie. Aby případně netrpěl nedostatkem práce, je od jara letošního roku i členem předsednictva Akademické rady AV ČR, a místopředsedou AV ČR odpovědným za II. Oblast věd o živé přírodě a chemických věd.

Po této cestě ještě posbíral titul DrSc. (1989), stal se docentem anorganické technologie na VŠCHT Praha (1992) a profesorem fyzikální chemie na Univerzitě Pardubice (2002). Byl a je členem několika vědeckých rad, byl členem i předsedou oborové rady pro přírodní vědy GA ČR a místopředsedou GA AV ČR, je členem několika mezinárodních vědeckých společností a od r. 2003 je členem Učené společnosti ČR (nyní i členem jejího předsednictva).

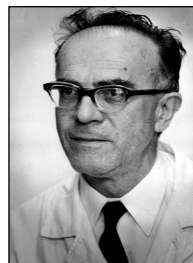
Po tomto letmém, avšak přesto obsáhlém přehledu, obraťme se k záživnější věci – k vědě. Vladimír je fyzikální chemik, zaměřený na elektrochemii a některé její analytické aplikace. Začínal určitými obecnými otázkami kinetiky elektrochemických reakcí a studiem elektrodo- vých materiálů. V sedmdesátých letech minulého století zahájil Jiří Koryta, jako jeden z prvních na světě, studium vlastností mezifázi mezi dvěma nemísitelnými roztoky elektrolytů (ITIES). Vladimír byl velmi brzy, spolu s dalšími (u nás např. Jan Weber a Zdeněk Samec), pohlčen touto tematikou a věnuje se jí dodnes.

Studium ITIES postupně nabylo neobyčejné důležitosti jak z hlediska elektrochemie vůbec, tak pro technologické a analytické aplikace (např. senzory) a pro pochopení dějů na biologických, buněčných membránách. Proto se mu v současnosti věnuje velký počet vědců na celém světě. Vladimír a jeho kolegové mají rozsáhlou spolupráci s řadou pracovišť jak v Evropě (např. Švýcarsko či Itálie), tak v Japonsku a USA. Dosažené výsledky jsou velmi povzbudivé.

Konečně jedna velmi důležitá věc: věda a vysokoškolské vzdělávání jsou nerozlučně spojeny. To je jeden z důvodů, proč tuto gratulaci píšeme dva a oceňujeme intenzivní spolupráci našich institucí. Vladimír k ní podstatným způsobem přispívá.

Přejeme Vladimírovi do dalších let to stejné zaujetí prací, úspěchy ve vědeckém výzkumu i v jeho řízení a radost ze života.

Zdeněk Samec a Karel Štulík



Zemřel chemik RNDr. Vladimír Hanuš, CSC.

S hlubokým zármutkem oznamujeme, že zemřel významný představitel české chemie a zakladatel oboru hmotnostní spektrometrie v České republice, RNDr. Vladimír Hanuš, CSC., vědec a vzácná osobnost, která silně ovlivnila naše životy a jejichž ztrátu neseme jen těžce. Dr. Hanuš zemřel v pátek 3. července 2009 ve věku 86 let.

Celý svůj vědecký život spojil s Ústavem fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského Akademie věd ČR. Tuto instituci pomáhal v padesátých letech založit, působil zde jako jeden z nejbližších spolupracovníků zakladatele, prof. Rudolfa Brdičky. Ústav po smrti prof. Brdičky také krátce vedl a jméno ústavu svou prací proslavil doma i v zahraničí.

Dr. Hanuš si vydobyl ještě před svou třicítkou velkého mezinárodní uznání v elektrochemii a polarografii jako blízký spolupracovník prof. Heyrovského a prof. Brdičky. V Ústavu fyzikální chemie se pak ale věnoval – právě na jejich doporučení – práci v jiné, tehdy se mocně rozvíjející nové oblasti. Spolu s Dr. Čermákem se v 50. letech minulého století stal u nás zakladatelem oboru hmotnostní spek-

trometrie. O několik let později stál pak sám u zrodu tehdy právě začínající hmotnostní spektrometrie organických látek. Právem je u nás považován za otce tohoto oboru a ve světě za jednoho z pionýrů v této oblasti výzkumu.

Dr. Hanuš měl vlastnosti velké vědecké i morální osobnosti, které dnes ve veřejném životě často postrádáme. A přes všechnu velikost ducha byl osobně nesmírně skromný, laskavý a nenáročný. Jeho odborný rozhled byl neuvěřitelně široký, nejen po chemii v celé její šíři, ale i po celých přírodních vědách. Říkávali jsme o něm, že lze za ním přijít s jakýmkoliv chemickým problémem a že bude buď rovnou znát odpověď, nebo poradí cestu, kde odpověď hledat. Jeho – „počkej, to už jsem přece někde viděl“ – bylo příslovečné. Byl nám učitelem, rádcem, i laskavým a tolerantním starším kolegou. Vědecká práce, porozumění a rozluštění problému, před kterým stál, mu byla vším. Jeho přirozená vědecká autorita mezi kolegy u nás i ve světě byla obrovská. Jeho práce mocně zasáhla do řady oblastí, nejen do chemie, ale i do fyziky, biologie, medicíny a soudní analýzy a bohatě naplnila a překonala požadavky společenské užitečnosti.

Nikdy nestál o tituly, ocenění nebo vyznamenání. V minulých letech se mu jich našťásti po zásluze dostalo hojně doma i v zahraničí. Velice jej těšilo členství v Učené společnosti České republiky. Byl dlouholetým členem redakčních rad prestižních chemických časopisů, například *Organic Mass Spectrometry*.

Dr. Hanuše jsme si velmi vážili pro jeho čestný a pevný charakter, pro jeho přímou i pro noblesu, s níž bez velkých slov stál za hodnotami, kterým věřil. Prožil bohatý, dlouhý a velmi plodný život zaniceného a všeobecně váženého vědce, jakých známe jen málo.

*Zdeněk Herman,
kolegové a přátelé*

Za panem profesorem Miloslavem Ferlesem

V měsíci srpnu jsme se rozloučili a na poslední cestu vyprovodili pana prof. Ing. Dr. Miloslava Ferlese, DrSc., emeritního profesora organické chemie na Ústavu organické chemie, Fakulty chemické technologie, Vysoké školy chemicko-technologické v Praze.

Život pana profesora se naplnil 7. srpna 2009, kdy „usnul“ v křesle s nedočetou knihou ve svých rukách. Odchod pana profesora byl pro všechny, kteří ho znali, velkým překvapením, protože se stále udržoval v dobré fyzické a duševní kondici. Do poslední chvíle navštěvoval

přednášky pořádané Ústavem organické chemie pro chemickou veřejnost, byl členem výboru skupiny historie chemie, pravidelně přispíval do rubriky *Střípky a klípky* o světových chemících publikovaných v *Chemických listech*.

Jeho život a dílo bylo hodnoceno a vzpomínáno při jeho 60., 70., 75., 80. a naposledy 85. narozeninách na stránkách *Chemických listů*. Proto si připomeneme jenom několik milníků z jeho života.

Narodil se 7. února 1922 v Čelákovcích na statku svých rodičů. Jako selský synek však propadl kouzlu chemie už na gymnáziu v Brandýse nad Labem. Kariéru chemika začal za protektorátu v pražských vysočanských laboratořích Spolku pro chemickou a hutní výrobu, kdy také vstupuje do České společnosti chemické. Po skončení druhé světové války studoval chemii na Vysoké škole chemicko-technologické v Praze, kterou úspěšně ukončil na katedře organické chemie u pana profesora Rudolfa Lukeše. Ten se mu také stal celoživotním vzorem. Chemii i své *Alma mater* zůstal věrný po celý svůj život. Prošel všemi pedagogickými funkcemi, zastával akademickou funkci, velice se angažoval v československé a posléze v České společnosti chemické.

Za svoji pedagogickou, vědeckou a společenskou práci získal nejvyšší akademické, pedagogické a vědecké hodnosti, ocenění a uznání. Uvedme alespoň Hanušovu medaili, pamětní medaili Františka Štolby, čestné členství chemické společnosti a v neposlední řadě i medaili Emila Votočka. Jeho přátelské a kolegiální vztahy se slovenskými chemiky byly oceněny stříbrnou a posléze zlatou medailí Slovenské chemické společnosti.

Zbývá ještě poděkovat a pak už jenom vzpomínat. Je na místě poděkovat panu profesorovi za jeho život, za to, jak jej žil. Žil pro svoji rodinu a pro svoji práci, práci vysokoškolského učitele a badatele. Poděkovat za práci, kterou odvedl pro katedru, fakultu, školu, chemickou společnost. Poděkovat za všechny ty generace studentů, diplomantů a doktorandů, které učil a kteří se u něho vyučili řemeslu organické syntézy. Poděkovat i za jeho přátelství, kterého se dostalo mnohým z nás a kterého si velmi vážíme. Máme i na co vzpomínat. Vzpomínat na jeho pěkné přednášky z organické chemie, jejichž obsah a prezentace byly i návodem, jak se organickou chemií učit. Vzpomínat na hezké chvíle strávené v laboratoři, na exkurzích, na konferencích. Ve vzpomínkách a ve svých publikacích, knihách a učebnicích zůstává žít i nadále.

Čest jeho památce.

František Liška

Výročí a jubilea

Jubilanti v 1. čtvrtletí 2010**85 let**

Doc. MUDr. Miloš Ledvina, CSc., (9.1.), LF UK Praha
Prof. PhMr. RNDr. Sylva Léblová, CSc., (22.1.), PřF UK Praha

80 let

Prof. Ing. Pavel Kratochvíl, DrSc., Dr.h.c., (6.2.), ÚMCH AV ČR Praha
Mgr. Svatoslav Staněk, (11.2.), ONV Liberec
RNDr. Štěpánka Štokrová, CSc., (16.2.), ÚMCH AV ČR Praha
Doc. RNDr. PhMr. Jaroslav Prokeš, DrSc., (25.2.), LF UK Praha
Ing. Jaroslav Sluka, (10.3.), VÚFB Praha
Prof. RNDr. Přemysl Beran, DrSc., (23.3.), PřF UK Praha
Ing. Jiří Hrdina, (31.3.), Artia Praha

75 let

MUDr. Bohumil Turek, CSc., (1.1.), SZÚ Praha
Ing. Miloš Vávra, CSc., (6.2.), FOMA Hradec Králové
Mgr. Milada Jelínková, (8.2.), ZDŠ Drtinova Praha
RNDr. Jiří Závada, DrSc., (16.2.), ÚOCHB AV ČR Praha
Ing. Věra Ďulová, CSc., (31.3.), Výzkumný ústav vnějších ekonomických vztahů Praha

70 let

Mgr. Josef Patera, (25.1.), Rakona Rakovník
Ing. Jiří Malecha, CSc., (20.2.), Praha
Prof. Ing. Jiří G. K. Ševčík, DrSc., (23.2.), PřF UK Praha
Doc. Ing. Vladimír Balek, DrSc., (16.3.), ÚJV Řež
Doc. Ing. Karel Handlíř, CSc., (31.3.), Univerzita Pardubice

65 let

RNDr. Pavel Zachař, CSc., (2.1.), VŠCHT Praha
Doc. Ing. Marie Balíková, CSc., (4.1.), LF UK Praha
Ing. Libor Janča, (31.1.), VÚ vodohospodářský Ostrava
RNDr. Bedřich Uchytíl, CSc., (11.2.), MV ČR Praha
Doc. Ing. Oldřich Hoffmann, CSc., (27.3.), VUT Brno

60 let

Ing. Vladimír Kraják, (7.1.), ZÚ Pardubice
Ing. František Opluštil, CSc., (21.1.), VÚ Brno
RNDr. Josef Novák, CSc., (22.1.), Výzkumný ústav pedagogický Praha
Doc. RNDr. Zdeněk Šindelář, CSc., (27.1.), PřF UP Olomouc
Prof. RNDr. Marie Stiborová, DrSc., (2.2.), PřF UK Praha
Ing. Miroslav Uhlíř, (28.2.), Ekosfera Ústí nad Labem
RNDr. Marie Solárová, Ph.D., (1.3.), PřF OU Ostrava
Ing. Ivan Veselý, CSc., (5.3.), Caymanpharma s.r.o. Neratovice
RNDr. Václav Petr, (17.3.), VÚANCH Ústí nad Labem
RNDr. Luděk Dohnal, (21.3.), VFN Praha
Ing. Jindřiška Kučerová, Ph.D., (30.3.), MZLU Brno

*Blahopřejeme***Zemřelí členové Společnosti**

RNDr. Vladimír Hanuš, CSc., zemřel 3. července 2009 ve věku 86 let.
Prof. Ing. Dr. Miloslav Ferles, DrSc., zemřel 7. srpna 2009 ve věku 87 let.

Čest jejich památce



SPEKTROSKOPICKÁ SPOLEČNOST JANA MARKA MARCI

Thermo
SCIENTIFICGenerálním sponzorem Spektroskopické společnosti Jana Marka Marci jsou Pragolab s.r.o.,
Thermo Fisher Scientific s.r.o. a Nicolet CZ s.r.o.

Spektroskopická společnost Jana Marka Marci

podporovaná generálním sponzorem Pragolab s.r.o., Thermo Fisher Scientific s.r.o. a Nicolet CZ s.r.o.

pořádá v Litomyšli ve dnech 31.5.–3.6.2010

14. Česko-Slovenskou spektroskopickou konferenci

Místo konání: Evropské školicí centrum Litomyšl, www.esclitomysl.cz

Program konference:

Odborný program konference bude zahrnovat všechny spektroskopické techniky z oblasti atomové i molekulové spektroskopie včetně speciálních spektrálních technik a jejich využití v různých aplikačních oblastech, jako např. farmacie a medicína, ochrana kulturního dědictví, analýza povrchů, molekulová spektroskopie a struktura látek, molekulová spektroskopie plynné fáze, chirální optické metody, in-situ analýza, nano aplikace, atd. Kromě plenárních přednášek a krátkých přednášek bude důležitou částí konference i sekce posterových sdělení. Odborný program bude doplněn bohatým společenským programem s využitím hudební tradice města Litomyšl. Konferenční poplatek pro členy Spektroskopické společnosti J.M.M. a studenty bude 2900 Kč + DPH, pro ostatní 3900 Kč + DPH, při pozdní platbě zvýšené o 1000 Kč.

Potvrzené plenární přednášky:

A. Makarov (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany) – Orbitrap – new type of mass analyzer

J.-M. Mermet (Spectroscopy Forever, Tramoyes, France) – Photon solid-state detectors: the revival of atomic spectrometry

Odborné kurzy předcházející konferenci:

Spektroskopie v analýze kulturních památek

Spektroskopie ve forenzní a antidopingové analýze

Organizační výbor:

M. Holčapek (předseda), M. Lisa, R. Jirásko, M. Koželouhová, T. Vaculovič, V. Kanický, Š. Urban, B. Dočekal, J. Hála, J. Sysalová, P. Matějka, V. Otruba

Korespondenční adresa:

Spektroskopická společnost Jana Marka Marci

Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity, Kotlářská 2, 611 37 Brno

e-mail: immss@spektroskopie.cz, <http://www.spektroskopie.cz>

Telefon: 549 49 1436, fax: 549 49 2494, mobil: 722 554 326, tajemnice společnosti Markéta Koželouhová

Spektroskopická společnost Jana Marka Marci

dále oznamuje, že ve spolupráci s dalšími institucemi pořádá

ve dnech 18.–22.1. 2010 a 25.–29.1. 2010 tradiční kurzy

MĚŘENÍ VIBRAČNÍCH SPEKTER a INTERPRETACE VIBRAČNÍCH SPEKTER

a v září 2010 již **11. ŠKOLU HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE.**

Aktuální informace k těmto kurzům je možné nalézt na <http://www.spektroskopie.cz>



EuCheMS

NEWSLETTER

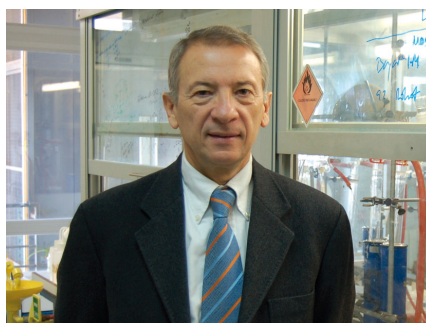
September 2009

EuCheMS future strategy

Having served nearly one year as President, it is clear to me that EuCheMS has come a long way as a European Association through developing its strong science base and pursuing effective EU policy activity. However, organisations need to look to the future and EuCheMS is no exception.

Now increasingly seen as an essential partner in European science initiatives, EuCheMS is also taking a more strategic approach to encouraging professional development and networking, enhancing communication and recognition and improving its decision-making structures. As agreed by the Executive Committee in April, seven Task Groups are helping to

- establish and implement a sustainable policy development activity (Chair: Rodney Townsend, Royal Society of Chemistry),
- develop a five-year financial plan (Chair: José Empis, EuCheMS Treasurer),
- identify ways of supporting the International Year of Chemistry in 2011 (Chair: Igor Tkatchenko, French Chemical Society),
- review structure and governance (Chair: Giovanni Natile, EuCheMS Past President),



EuCheMS President Luis Oro.

- enhance recognition of EuCheMS by member societies and their individual members (Chair: Franco De Angelis, Italian Chemical Society),
- explore the feasibility of establishing a EuCheMS academy of chemistry (Chair: Jay Siegel, Swiss Chemical Society),
- prepare a vision for EuCheMS Chemistry Congresses (Chair: Pavel Drasar, Czech Chemical Society).

I look forward to welcoming representatives from 50 EuCheMS member societies at the General Assembly in Interlaken in October where we will review our achievements and approve future strategy.

*Luis Oro, EuCheMS President
oro@unizar.es, www.euchems.org*

Centenary of the Italian Chemical Society

The centenary of the Italian Chemical Society (SCI) in 2009 is celebrated by different events, characterised by international participation and ranging from traditional fields of chemistry to specific themes such as education, safety and regional interests.

The simultaneity of our centenary with those of other organisations has resulted in several co-sponsorships, e.g. in chemistry and futurism. The most important event was the SCI Congress in Sorrento in July with

about one thousand chemists from universities, industry and research institutions.

During the last years the number of students in the scientific faculties has decreased. Some future projects in cooperation with the Italian Ministries of University, Health and Economy will encourage young people to study chemistry and thus increase human capital needed for innovation.

*Luigi Campanella, SCI President
soc.chim.it@agora.it*

New EYCN steering group

The annual European Young Chemistry Network (EYCN) Delegate Assembly took place on 10 to 11 March 2009 during this year's Frühjahrsymposium in Essen, Germany. With the Swedish Chemical Society as a new member EYCN now consists of 21 member societies and one affiliated member society. In addition, the Delegate Assembly elected a new steering committee for the next two years. Nevertheless, the new steering committee has a challenging task ahead, as the first steering committee was largely responsible for the creation of EYCN.

Taking into account previous experience, some amendments were made to the EYCN rules concerning posts in the steering group. A new position of an advisor was added to the steering committee, which will be occupied by the former chair Csaba Janáky. EYCN's new steering committee is formed by Helena Laavi from Finland (Secretary), Sergej Toews from Germany (Chair), Ilya Vorotyntsev from Russia (Website), Viviana Fluxa from Switzerland (Industry) and Dan Dumitrescu from Romania (Communications).

It was emphasized that the role of EYCN in bridging relations between young chemists and industry should be activated and, in general, networking between members should be intensified. Since EYCN has no bank account there is no need for a treasurer. Therefore the position "Treasurer" was changed to "Industry" and the former position of "Industry/Internet" was changed into "Website".

*Dan Dumitrescu, dan.dumitrescu@gmail.com
www.eycn.eu*



Photo: BASF



Prize for chemistry teaching

The Swiss Chemical Society has created a new prize, the Balmer Prize, to award chemistry teachers for innovative teaching at high school level. The award will be given for successful new and experimental didactic approaches to chemistry topics or for outstanding reviews of personal experience. The prize will be awarded annually and consists of either 2000 Swiss francs for an individual teacher, with an additional 2000 Swiss francs for the teacher's chemistry department, or 3000 Swiss francs for a team of teachers, with an additional 1000 Swiss francs for the team's chemistry department. The call for bids and the evaluation of candidates will be carried out together with the Swiss Science Teachers.

www.scg.ch/news/news.cfm?ID=135

European chemistry outreach in Bristol

Twenty 16-year-old Italian students and their teachers from Codogno near Milan took part in the inaugural Spring Chemistry School in England. The students spent two days in Bristol ChemLabS enjoying a range of practical work and talks and also took the opportunity to engage in some cultural activities in the first of a series of annual visits.

Another Bristol ChemLabS outreach team, working with the British Council, organised a science week aimed to enthuse French school students from Marseille as part of the 'Science in Schools' programme. In total 370 students aged from 13 to 15 took part in nine half-day sessions. Each session consisted of a one-hour lecture-demonstration in French and English followed by hands-on experience in a workshop. This event was supported by the Centre Universitaire de Saint Jérôme.

A Bristol ChemLabS outreach team visited Malta and Gozo in April to give six performances of the lecture demonstration 'A pollutant's tale' to secondary-aged students from mixed state and church schools. Over 1550 students participated in the shows. A seventh extended session was held for science and education undergraduates at the University of Malta.

Tim Harrison, T.G.Harrison@bristol.ac.uk

Achema 2009 generates optimism

Chemistry and chemical engineering are focusing confidently on the future: this sums up Achema 2009 that took place from 11 to 15 May in Frankfurt. Over 173 000 visitors from all over the world visited the exhibition halls in order to catch up on the latest products and technologies. 3767 exhibitors from 49 countries displayed their cutting-edge developments from chemical engineering, pharmaceutical and food technology, biotechnology and related sectors.

Both the exhibitors and the organisers were highly satisfied with the outcome of the event. "The high number of exhibitors and visitors sent out an unmistakable message that will resound far beyond the Achema: our branches are going to tackle the challenges and leave the economic crisis behind them", stated Gerhard Kreysa, Chief Executive of the Society for Chemical Engineering and Biotechnology (Dechema) that organised Achema. Dechema is a member organisation of EuCheMS.

The exhibitors praised the high standard of discussions and contacts. This year's over-



Achema 2009 attracted more than 173 000 visitors.

riding theme was process efficiency. Biotechnological processes and the application of renewable resources were also key topics. Many exhibitors displayed novel microstructured components, while nanotechnology and ionic fluids played a prominent role in the Congress programme. More than 900 lectures attracted scientists and developers to discuss the latest market-ready research results.

Kathrin Rübberdt
ruebberdt@dechema.de

The Sustainable Chemistry Award

The European Sustainable Chemistry Award, a EuCheMS initiative, is being launched with the encouragement of the European Environment Agency (EEA) and the support of the European Platform for Sustainable Chemistry (SusChem) and the European Chemical Industry Association Cefic.

Nobel Laureates Gerhard Ertl and Jean-Marie Lehn have accepted invitations to be Patrons. The Award will cover innovations in the use of

- alternative synthetic pathways that increase resource efficiency and selectivity,
- alternative feedstocks that are safer and/or renewable,
- alternative reactor design and reaction conditions, such as use of solvents with health and environmental benefits, or increased yield and reduced waste,

- chemicals and chemical products that are less environmentally harmful than current alternatives or inherently safer with regard to hazardous aspects.

The first Award, a prize of 10 000 Euro, will be presented during the 3rd EuCheMS Chemistry Congress, on 29 August to 2 September 2010 in Nürnberg, Germany. An independent panel will be appointed to consider the nominations.

Requirements for the substantiating documentation and guidance on nominations will be published on the Award website. A short promotional leaflet is available from the EuCheMS Secretariat (EuCheMSsecretariat@rsc.org).

Luis Oro, oro@unizar.es
www.euchems.org/esca



Global Helsinki Chemicals Forum

The first Helsinki Chemicals Forum was held from 27 to 29 May in Helsinki, Finland. This meeting involved delegates from many governments worldwide and was organised by the Chemicals Forum Association in cooperation with the EU Commission. It is intended that this meeting should be the first of a series of strategic high level meetings for the global chemical industry; indeed, the second meeting has already been arranged for 20 to 21 May 2010. Helsinki is an ideal venue for the meetings: the European Chemicals Agency is located in Finland and an increasing number of chemical companies are now established there.

The Finnish government signalled its commitment to the meeting through the direct participation of past and present Prime Ministers of Finland, the Minister of Economic Affairs and the Mayor of Helsinki. The European Commission was represented by a large delegation headed by Stavros Dimas, Commissioner for the Environment. The emphasis of the meeting was strongly on the implementation of Reach, the EU regulation on chemicals and their safe use. There

was much discussion of the testing of formulations and mixtures, and possible regulatory successors and delegates were given detailed updates on dialogues with other global power blocks, such as China, India and USA concerning the future implementation of Reach in these countries and federations.

Rodney Townsend of the RSC, current Chairman of SusChem, represented EuCheMS through his presentation and involvement in the session on safety and sustainability, chaired by Alain Perroy of Cefic.

*Rodney P. Townsend, TownsendR@rsc.org
www.finnexpo.fi/helsinkichemforum/*



Photo: Finnish Fair Corporation

Experiences from Reach were discussed at the Helsinki Chemicals Forum.

News for analytical chemists

The EuCheMS Division of Analytical Chemistry (DAC) maintains a website with information on groups of analytical chemistry at European universities (www.dac-euchems.org). Everyone may contribute to the database and contributors are responsible for an annual update of the information. The service is offered free of charge. The report on activities of DAC during 2008 was published in journals of analytical chemistry where Manfred Grasserbauer contributed with his personal view on analytical chemistry in the assessment of climate changes and sustainable application of the natural resources to human welfare.

In conjunction with the meeting of the steering committee in Tallinn, Estonia, in April, Mihkel Kaljurand and Mihkel Koel of

Tallinn University of Technology organised a successful symposium attended by 51 participants. The symposium illustrated the scientific work of the steering committee directed to various topics of analytical chemistry.

Although affected by the global financial crisis, the Euroanalysis Conference will be held on 6 to 10 September in Innsbruck, Austria. For next year, the programme for the analytical section of the 3rd European Chemistry Congress is in preparation and the Euroanalysis XVI Conference is planned for Belgrade, Serbia, in 2011.

*Jens E. T. Andersen, Bo Karlberg
jeta@dac-euchems.org
www.euroanalysis2009.at
www.dac-euchems.org*

Heilbronner-Hückel Lecture

The Swiss and the German Chemical Society, SCS and GDCh, have agreed on creating a joint named lecture, the Heilbronner-Hückel Lecture. Switzerland will begin in 2010 by inviting a German scholar to hold a lecture series in Switzerland, the GDCh will invite a Swiss scholar to Germany in 2011, and so on. Edgar Heilbronner (1921 to 2006) was a Swiss-German chemist. Erich Hückel (1896 to 1980) was a German physicist and physical chemist. The initiative arose from a cooperation agreement, signed by the two societies in 2008.

Hubert Mandery appointed as Cefic Director General

The Board of Cefic gave approval to the appointment of Hubert Mandery as Cefic Director General Designate in succession to Alain Perroy on his retirement on 31 October 2009. The appointment is subject to ratification by Cefic General Assembly in Lisbon in October. Hubert Mandery (55) is Senior Vice-President for Trade Policy and General Political Issues at the chemical company BASF. Cefic is promoting the competitiveness of the industry via initiatives and action programmes at a most difficult time for European chemical companies. It is expected that Hubert Mandery will play a vital part in leading these programmes, as well as developing a long-term vision and strategy for the future success of the industry. ks

www.cefic.org

Brussels News Updates

The monthly News Updates are a valuable source of information about EU-level developments on policy, regulation and legislation. Now in its fourth year, this publication is an essential resource for EuCheMS member societies and the chemical sciences community across Europe. It provides a summary of topical issues and web links to sources of more detailed information, e. g. Cordis, Euractiv and European Commission and EU Parliament websites. Ioanna Psalti is currently the author of the EuCheMS Brussels News Updates.

www.euchems.org/News/Brussels.asp

Year of Chemistry 2011

The preparations for the International Year of Chemistry (IYC) 2011 continue. The IUPAC Management Committee, in which Wolfram Koch represents EuCheMS, met in Bratislava in April and discussed the next steps. The webpage is online and is being updated continuously. EuCheMS recently established a Task Group chaired by Igor Tkatchenko in order to identify opportunities for EuCheMS support for IYC 2011. The Task Group will in particular define ways how the IYC can be promoted in Europe and through which activities EuCheMS can get involved. At the national level, coordination groups have been established in many countries already.

wk
www.chemistry2011.org

Swiss kick-off for IYC 2011

At the invitation of the Swiss Chemical Society, the Platform Chemistry of the Swiss Academy of Sciences (SCNAT) and the association Chemie Pharma Schweiz (SGCI), over 30 organisations from education, industry and society gathered in Bern for the kick-off meeting for the International Year of Chemistry (IYC) 2011. Ideas for activities and possibilities of collaboration were exchanged among the 33 organisations interested in making a contribution to the International Year of Chemistry.

Lukas Weber, weber@scg.ch

Challenges in food preservation

The EFFoST conference on food preservation will be held on 11 to 13 November 2009 in Budapest, Hungary. The conference sessions will focus on processing, safety and sustainability.

www.effostconference.com

Danisco Award 2008

Barbara Ann Halkier, University of Copenhagen, has received the Danisco Award 2008 for her research into secondary metabolites, which are biologically active substances in, for instance, plants. The Award instituted by the Danisco Foundation represents a value of 250 000 Danish kroner.

Roger Fenwick, roger.fenwick@BBSRC.AC.UK

First Young Investigator's Workshop

European networking for young professors of organic chemistry was the motivation for the first Young Investigator's Workshop, sponsored by the Organic Division of EuCheMS and the Center for Pharmacology and Analysis (Cepha), a Czech contract research organisation. The event, which took place in Liblice Castle near Prague from 16 to 18 July 2009, brought together 28 organic chemistry professors from 18 member societies.

Lecture topics in the two-day retreat spanned chemical biology, synthesis, catalysis, materials and mechanism. The programme and participants showed the cultural and topical diversity that makes organic

chemistry a core to many cross and multi disciplinary projects and a vital growth area of European science.

js



Young professors of organic chemistry from all over Europe met in Liblice Castle near Prague.

Conferences on chemistry education and didactics in Kraków

The 10th European Conference on Research in Chemistry Education (ECRICE) and the 4th International Conference Research in Didactics of the Sciences (DidSci) will be held on 4 to 9 July 2010 at the Pedagogical University of Kraków. Both conferences will take place immediately after ICASE 2010, the World Conference on Science and Technology Education. Following a long tradition, ECRICE is organised under the auspices of the EuCheMS Division of Chemical Education.

The conferences are an opportunity to exchange experiences in chemical education (ECRICE) and research and practice in natural science education (DisSci) carried out at

every education level from primary school up to graduate studies.

The programme will feature a wide variety of plenary, invited and contributed lectures, as well as poster sessions. Abstracts of oral contributions and posters will be peer-reviewed. ECRICE will be held in English, the DidSci conference in English, Polish, Czech and Slovak. The organising committee of the 10th ECRICE and 4th DidSci cordially invites academicians, doctoral students, science teachers and researchers to participate in these important conferences.

Iwona Maciejowska
maciejow@chemia.uj.edu.pl
ecrice2010.ap.krakow.pl

EuCheMS Newsletter

Newsletter coordinator: Karin Schmitz
Please send all correspondence and manuscripts to k.schmitz@gdch.de

Editors: Wolfram Koch (responsible), Uta Neubauer, Frankfurt am Main

Advisory board: Reto Battaglia (Switzerland), Claudine Buess Herman (Belgium), Pavel Drasar (Czech Republic), Roger Fenwick (UK), Philippe Garrigues (France), Wolfram Koch (Germany), Minos Leontidis (Cyprus), Evelyn McEwan (EuCheMS Secretariat) and Giovanni Natile (Italy).

Layout: Jürgen Bugler, Frankfurt am Main

Production: *Nachrichten aus der Chemie*

Publisher: Gesellschaft Deutscher Chemiker on behalf of EuCheMS
Postfach 900440, D-60444 Frankfurt am Main
euchems@gdch.de

EuCheMS General Secretary:
Evelyn McEwan, c/o RSC, Burlington House, Piccadilly, London W1J 0BA, UK
secretariat@euchems.org
www.euchems.org

EuCheMS is registered as "Association internationale sans but lucratif" (AISBL, international non-profit association)

AISBL-Registered office: Avenue E. Van Nieuwenhuysse 4, B-1160 Brussels

Where Chemistry Meets Life Science

14 national
chemical
societies of
EUChemSoc



are co-owners of
ChemBioChem



Austria



Belgium



Czech Republic



France



Germany



Greece



Hungary



Italy



Netherlands



Poland



Portugal



Spain



Sweden

Subscribe now!

For further information
and to subscribe please
send an E-mail to:

cs-journals@wiley.com
(North and South America)

service@wiley-vch.de
(Germany/Austria/Switzerland)

cs-journals@wiley.co.uk
(all other areas)

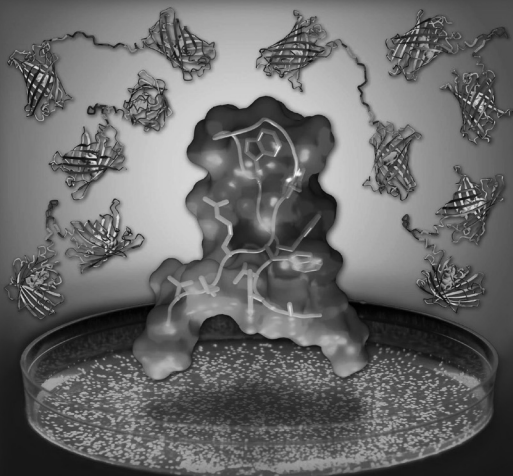
CBCHPX 8 (8) 833 - 960 (2007) - ISSN 1439-4227

D55712

A EUROPEAN JOURNAL

CHEM BIOCHEM

OF CHEMICAL BIOLOGY



**ISI Impact
Factor (2006):
4.100**



EUChemSoc



Minireview: Molecular Mechanisms of *agr* Quorum Sensing
in Virulent *Staphylococci*

Highlight: Light-Stimulated Patterning of Cells
Plus Original Contributions

Chemistry & Life Sciences

WILEY-VCH

an attractive mixture of:

- Short communications
- Full papers
- Reviews & Minireviews
- Highlights & Concepts
- News & Comments
- Book and Multimedia
Reviews

Chairmen of the Editorial Board:

Alan R. Fersht (UK)

Jean-Marie Lehn (France)

Editor:

Peter Göllitz

Managing Editor:

Lisa Abel

New in 2007: 18 issues per year



Visit **ChemBioChem** online
www.chembiochem.org



WILEY
InterScience[®]
DISCOVER SOMETHING GREAT



WILEY-VCH



62. SJEZD ASOCIACÍ ČESKÝCH A SLOVENSKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ

28. – 30. června 2010, Pardubice

<http://sjezdCsSch2010.upce.cz>

*Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická*

62. sjezd asociací českých a slovenských chemických společností se koná při příležitosti oslav šedesátého výročí vysokého školství v Pardubicích pod záštitou děkana Fakulty chemicko-technologické.

Sekce sjezdu

Anorganická chemie (včetně bioanorganické); garant: I. Lukeš
Organická chemie a polymery (včetně bioorganické a farmaceutické); garant: M. Sedlák
Analytická chemie (včetně bioanalytické); garant: M. Holčapek
Fyzikální, teoretická a počítačová chemie; garant: P. Čársky, M. Urban
Přírodní látky (fytoceutika, biologická aktivita, fytofarmaka); garant: V. Šimánek
Chemické vzdělávání, historie a popularizace chemie, garant: H. Čtrnáctová
Průmyslová chemie (ChemProgres); garant: J. Hanika
Potravinářská chemie (včetně doplňků stravy, nutraceutik); garant: J. Královský
Nanotechnologie (nanomateriály a nanotechnologie materiálův-chemického směru); garant: G. S. Martynková (ve spolupráci s projektem OP VpK – „TEAM – CMV”)
Termická analýza a kalorimetrie; garant: P. Šulcová

Organizační výbor: předseda – Tomáš Wágner; e-mail: tomas.wagner@upce.cz, J. Ulrichová, M. Drábik, H. Pokorná, A. Vlková, R. Rápková, K. Ventura, P. Mikulášek, L. Svoboda, P. Kalenda, Mir. Vlček, R. Svoboda, V. Zima, A. Růžička, A. Komárková, L. Vařeková, M. Rolečková, B. Frumarová

Vědecký výbor: předseda – Miloslav Frumar; e-mail: miloslav.frumar@upce.cz
a odborní garanti jednotlivých sekcí

Veškeré aktuální informace najdete na internetové adrese: <http://sjezdCsSch2010.upce.cz>.



OBSAH**ÚVODNÍK** 787**REFERÁTY****Nitrace proteinů reaktivními formami dusíku** 788
I. Hnízdoval, L. Luhová a M. Petřivalský**Potenciometrické senzory založené na vodivých polymerech: příprava, mechanismus odezvy a aplikace** 795

G. Broncová, T. V. Shishkanova, M. Kronďák, R. Volf a V. Král

Imobilizované fotosenzitizátory singletového kyslíku a jejich účinek na mikroorganismy 800

R. Rychtáriková a G. Kuncová

Metody detekce a charakterizace *Campylobacter* sp. 814

I. Hochel

Fyzikálně-chemické aspekty umělého vyvolání deště 823

P. Chuchvalec a O. Svoboda

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY**Porovnání výsledků tří analytických metod pro stanovení obsahu rutinu v pohance tatarské** 827

L. Štočková, E. Matějová, D. Janovská a S. Sýkorová

Li⁺ a H⁺ vodivé polymerní elektrolyty s kovalentně vázanými anionty 832

J. Reiter, J. Michálek, M. Přádný, D. Chmelíková a J. Širc

Využití integrovaného obvodu pro středovlnné radiové přijímače v bezkontaktním vodivostním detektoru pro detekci látek v roztoku 839

F. Opekar

VÝUKA CHEMIE**ŽIRAFKA, aneb soutěž Život, Radost, Fantazie** 843

H. Cídllová, Z. Mokrá a B. Valová

CONTENTS**EDITORIAL** 787**REVIEW ARTICLES****Protein Nitration by Reactive Nitrogen Species** 788
I. Hnízdoval, L. Luhová, and M. Petřivalský**Potentiometric Sensors Based on Conducting Polymers: Preparation, Response Mechanisms and Applications** 795

G. Broncová, T. V. Shishkanova, M. Kronďák, R. Volf, and V. Král

Immobilized Singlet Oxygen Photosensitizers and Their Antimicrobial Effect 800

R. Rychtáriková and G. Kuncová

Methods of Detection and Characterization of *Campylobacter* sp. 814

I. Hochel

Physicochemical Aspects of Artificial Rainfalls 823

P. Chuchvalec and O. Svoboda

LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS**Comparison of Analytical Methods for Rutin Determination in Tartary Buckwheat** 827

L. Štočková, E. Matějová, D. Janovská, and S. Sýkorová

Li⁺ and H⁺ Conducting Polyelectrolytes with Covalently Bonded Anions 832

J. Reiter, J. Michálek, M. Přádný, D. Chmelíková, and J. Širc

Utilization of Integrated AM Receiver Circuit in Contactless Conductivity Detector for Detection in Liquids 839

F. Opekar

EDUCATION IN CHEMISTRY**Pupil's Competition ŽIRAFKA** 843

H. Cídllová, Z. Mokrá, and B. Valová

BULLETIN ČESKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ

**Chemisches Zentralblatt se po 40 letech vrací
jako užitečný informační zdroj** 849
J. Šilhánek
50 let radioimunoanalýzy 853
O. Lapčík

Ze života chemických společností 855
Odborná setkání 857
Akce v ČR a v zahraničí 861
Strípky a klípky o světových chemících 862
Zprávy 862
Osobní zprávy 864
Výročí a jubilea 869

BULLETIN OF THE CZECH CHEMICAL SOCIETIES

Chemisches Zentralblatt – Historical Present 849
J. Šilhánek
50 Years of Radioimmunoassay 853
O. Lapčík

From the Chemical Societies 855
Meetings and Conferences 857
Meetings Calendar 861
Biographical Sketches of World Chemists 862
News 862
Personal News 864
Anniversaries and Jubilees 869

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 103 (2009), čís./no. 10 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 133, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 119 • 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 Nadace Český literární fond a kolektivních členů ČSCH • IČO 444715 • Published by the Czech Chemical Society • VEDOUCÍ REDAKTOR/EDITOR-IN-CHIEF: B. Kratochvíl • REDAKTOŘI/ EDITORS: J. Barek, Z. Bělohav, P. Drašar, J. Hetflejš, P. Holý, J. Horák, P. Chuchvalec, J. Podešva, P. Rauch, J. Volke; Bulletin: I. Valterová; Webové stránky: R. Liboska, P. Zámstný • ZAHRANIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTOŘI/ FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA), L. Opletal (Hradec Králové), P. Tarkowski (Olomouc), Z. Kolská (Ústí nad Labem) • KONZULTANT/ CONSULTANT: J. Kahovec • VÝKONNÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: R. Řápková • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: E. Borsig, M. Černá, L. Červený, E. Dibuszová, J. Haníka, Z. Havlas, I. Kadlecová, J. Káš, J. Koubek, T. Míšek, J. Pacák, V. Pačes, O. Paleta, V. Růžička, I. Stibor, V. Šimánek, R. Zahradník • ADRESA PRO ZASÍLÁNÍ PŘÍSPĚVKŮ/MANUSCRIPTS IN CZECH, SLOVAK OR ENGLISH CAN BE SENT TO: Chemické listy, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel./phone +420 221 082 370, fax +420 222 220 184, e-mail: chem.listy@csvts.cz • INFORMACE O PŘEDPLATNÉM, OBJEDNÁVKY, PRODEJ JEDNOTLIVÝCH ČÍSEL A INZERCE/INFORMATION ADS: Sekretariát ČSCH, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel/fax +420 222 220 184, e-mail: chem.spol@csvts.cz, chem.ekonom@csvts.cz • PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL: <http://www.chemicke-listy.cz> • TISK: Rodomax s.r.o., Rezecká 1164, 549 01 Nové Město nad Metují; SAZBA, ZLOM: ČSCH, Chemické listy • Copyright © 2009 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 170 Kč, roční plně předplatné 2009 (12 čísel) 1730 Kč, individuální členské předplatné pro členy ČSCH 865 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 92 EUR (doručování via SCHS), individuální členské předplatné pro členy ČSCH 70 EUR (doručování via SCHS), 258 EUR (individuální doručování), ceny jsou uvedeny včetně DPH • DISTRIBUTION ABROAD: KUBÓN & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG; Annual subscription for 2008 (12 issues) 225 EUR • This journal has been registered with the Copyright Clearance Center, 2322 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923, USA, where the consent and conditions can be obtained for copying the articles for personal or internal use • Pokyny pro autory najdete v čísle 1/2002 a na internetu, zkratky časopisů v čísle 10/97 na str. 911 • Chemické listy obsahující Bulletin jsou zasílány zdarma všem individuálním a kolektivním členům ČSCH a ČSPCH v ČR i zahraničí, do všech relevantních knihoven v ČR a významným představitelům české chemie a chemického průmyslu; v rámci dohod o spolupráci i členům dalších odborných společností • Molekulární námět na obálce: D. Hnyk • Dáno do tisku 30.9.2009.