



# Chemické

# listy

# 11



Příprava nanočástic kovů mikroorganismy

Chemie chmele

Membrány pro záchyt oxidu uhličitého

Polyimidy z obnovitelných zdrojů

Ročník 116

CHLSAC 116 (11) 661 - 716 (2022) ISSN 0009 - 2770 <http://www.chemicke-listy.cz>

# Stay in touch through our Virtual Symposia

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

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

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

And many more...





# Ph.D. studium na Agronomické fakultě MENDELU

## Vyberte si z nabídky doktorského studia a nastartujte vědeckou kariéru na Mendelově univerzitě v Brně!

Jako doktorandi se zapojíte do výzkumných projektů a pro svou práci získáte špičkové vybavení v **moderních laboratořích**. Na Agronomické fakultě vás vždy podpoříme. Své znalosti a dovednosti můžete nad rámec studia rozvíjet na tematických seminářích, workshopech nebo mezinárodních **letních školách**. Poznejte kapacity v oboru a vyjeďte do zahraničí, nabízíme desítky destinací po celém světě. Pro studenty doktorského studia pořádáme **mezinárodní konferenci MendelNet** a výzkumné projekty podporujeme v rámci Interní grantové agentury. Studujte **#doktorát\_na\_afmendelu** a pomozte svět udělat lepším.

## Co u nás můžete studovat?

- Aplikovaná a krajinná ekologie
- Aplikovaná bioklimatologie
- Aplikovaná zoologie
- Biologická chemie
- Molekulární biologie, genetika a fyziologie živočichů
- Molekulární fyziologie, genetika a biotechnologie rostlin
- Obecná produkce rostlinná
- Obecná a speciální zootechnika
- Provoz strojů a zemědělských technických systémů
- Rybářství a hydrobiologie
- Speciální produkce rostlinná
- Výživa a krmení zvířat

**4 roky studia - v prezenční i kombinované formě**

Zjistěte víc

[af.mendelu.cz](http://af.mendelu.cz)

 [af.mendelu](https://www.facebook.com/af.mendelu)

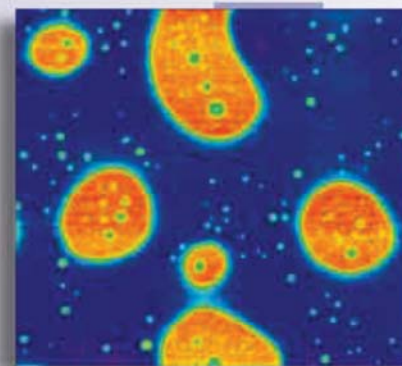
 [af.mendelu](https://www.instagram.com/af.mendelu)

 **MENDELU**  
 **Agronomická**  
 **fakulta**  


# See the nanoworld

with IR-SNOM and Raman spectroscopy

The desire to know more and more has been always innate to humanity since the discovery of fire until Faustus of today. Nicolet CZ offers a series of sophisticated scientific systems including FT-IR and Raman spectrometers and microscopes or SNOM (scanning near field optical microscopy), the innovative technique of IR microscopy with ultra high resolution (down to 10 nm).



## Raman microscope Nicolet DXR3xi

- High-performance imaging EMCCD detector
- 0.4 $\mu$ m resolution
- Non-destructive measurements
- Millions of spectra within tens of minutes
- Compatible with AFM (topography measurements), SPM and TERS
- Safe radiation source (UV, VIS or NIR laser)
- User friendly and intelligent software
- Suitable for studies of deposited graphene layers, pharmaceutical specimens, forensic analysis, distinguishing of individual polymorphs of a compound and many others



## NeaSpec SNOM

- 10nm resolution
- IR-SNOM/Raman combined experiments
- Ultra-fast chemical imaging and topography measurement
- Non-destructive measurements
- Tunable broad-band IR laser as a safe radiation source
- User friendly and intelligent software
- Studies of plasmons, hyperbolic materials, polymer blends (orientation of molecules), organic and inorganic semiconductors, structural disorder of materials, charge distribution and electronic nanomotion, graphene layers, protein and virus complexes, nanomaterial properties, and many others



**NICOLET CZ**  
MOLECULAR SPECTROSCOPY

**Vážené čtenářky, vážení čtenáři,**

dovolte mi, abych Vám v krátkosti přiblížil 74. sjezd chemiků, který se po deseti letech vrátil do srdce úrodné Hané, do Olomouce. A i přes naše organizační obavy nebyl nakonec omezen pandemií, resp. čímkoliv jiným, a mohl tedy proběhnout a podpořit setkávání chemiků nejen z Česka a Slovenska. Celá akce probíhala v prostorách Pedagogické fakulty Univerzity Palackého v Olomouci (UP), s výjimkou společenského večera, který se přesunul do Uměleckého centra UP (do budovy bývalého jezuitského konviktu a přilehlých zahrad).

V rámci nedělního (4. září 2022) zahájení účastníci přivítali jak představitelé České společnosti chemické (prof. Tomáš Navrátil, prof. Vlastimil Vyskočil), Slovenské chemické společnosti (doc. Monika Jerigová a prof. Lubomír Švorc) a univerzity (doc. Lucie Plihalová a doc. Martin Kubala), tak krojovaní Hanáci nebo univerzitní smíšený komorní sbor Ateneo s doprovodem Daniela Režného. Dalším milým bodem programu bylo předávání ocenění. Medaili České společnosti chemické, nejvyšší ocenění ČSCH, převzala za celoživotní práci prof. Jitka Ulrichová (UP Olomouc). Významné ocenění European Chemistry Fellow přebírali Dr. Ivana Čisarová (UK Praha) a prof. Radek Cibulka (VŠCHT Praha). Prof. Cibulka pak následně převzal i Cenu Miloše Hudlického za svoji publikaci v časopise *European Journal of Organic Chemistry*<sup>1</sup>. Cenu Karla Preise pak převzal prof. Karel Lemr (UP Olomouc) za kolektiv autorů, kteří iniciovali a podíleli se na psaní zvláštního čísla *Chemických listů* věnovaného hmotnostní spektrometrii<sup>2</sup>. V neposlední řadě byl za celoživotní dílo oceněn prof. Peter Šimon (STU Bratislava) a to Zlatou medailí Slovenské chemické společnosti. Oceněn byl rovněž prof. Vilím Šimánek (UP Olomouc), jeden z otců chemie v Olomouci, který bohužel nemohl ze zdravotních důvodů 74. sjezd navštívit. Po tomto úvodu pak následovala výjimečná plenární přednáška prof. Vladimíra Křena (MBU Praha) na téma modifikace přírodních látek pomocí enzymových reakcí.

Pondělní start programu pak zahájil zdravící rektor UP Olomouc prof. Martin Procházka, který převzal nad 74. sjezdem chemiků záštitu. Abych nenudil čtenáře detailním popisem, co a jak, dovolím si jen poukázat na to, že zazněly další skvělé a zajímavé plenární přednášky dr. Aleše Gavendy (Teva Czech Industries, Opava), doc. Ivana Šalitroše (UK Bratislava), dr. Luboše Valeriána (Policie ČR, Ostrava), prof. Karla Bouzka (VŠCHT Praha) a prof. Jana Hlaváče (UP Olomouc). Čtyři z těchto plenárních přednášek jsou nyní dostupné i online na webových stránkách konference<sup>3</sup> pro všechny zájemce z řad odborné i laické veřejnosti.

Další program pak v sobě zahrnoval přednášky účastníků ve 12 odborných sekcích od chemie přírodních látek, přes tradiční anorganickou či organickou chemii, po průmyslovou chemii a biochemii (celkem bylo proslouveno více jak 120 přednášek). Nechyběla samozřejmě i posterová sekce (celkem více jak 80 posterů), která v sobě zahrnovala i soutěž o nejlepší příspěvek. Porota vedená prof. Tomášem Navrátillem, předsedou ČSCH, pak vybrala a ocenila šest sdělení, resp. jejich hlavních autorů: Marek Hupian (Univerzita Ko-

menského v Bratislavě), Radek Jerga (UP Olomouc), Eliška Matušková (Univerzita Pardubice), Oleksandr Matvieiev (Univerzita Pardubice), Dominik Sarvaš (Univerzita Komenského v Bratislavě) a Hana Tkačiková (Ostravská Univerzita). Nejen vítězům, ale všem z autorských kolektivů, patří velká gratulace.

Počasi pak přálo společenskému večeru, takže se účastníci mohli vydat diskutovat nejen do prostor Konviktu, ale i na nádvoří nebo parkánových zahrad. Pro zájemce byla nachystána komentovaná prohlídka Kaple Božího Těla nebo DJ produkující hudbu k tanci i poslechu.

74. sjezd by se samozřejmě neuskutečnil bez partnerů, významných společností, které působí nejen v oblasti chemie, jmenovitě: Metrohm Česká republika (generální sponzor a partner 74. sjezdu chemiků), Shimadzu (generální sponzor a partner sekce Analytická chemie), Anamet (generální sponzor a partner sekce Porézní materiály), HPST, Teva Czech Industries, Trigon Plus, Nicolet CZ, Contipro, 3Dwiser, P-lab, Phenomenex, Pragolab, Netzsch, Optik Instruments, Lachner, Block, Merck, EffiChem, Rigaku, Chromservis, DEX, Úsovsko, Chemistry Europe – European Chemical Societies Publishing, Elsevier – Reaxys, LabRulez, Chemagazin. I těm patří velký dík!

V neposlední řadě je nutné zmínit obrovské úsilí Asociace mladých chemiků, která zahájila 74. sjezd o den dříve svým setkáním, a která konání sjezdu podpořila přítomností „helpiků“. Opět moc děkujeme! Výčet poděkování by měl zahrnovat další a další a další (garanty sekcí, sekretariát ČSCH, ale také např. pracovníky zajišťující stravování, úklid, techniku atd. atd.), kteří nebyli vidět, ale bez kterých by sjezd neproběhl. Nicméně domnívám se, že hlavní poděkování patří všem účastníkům, co na 74. sjezd přijeli – bez nich by sjezd nebyl. Účastníci vytváří program, diskuse, propojování myšlenek, spolupráci... My organizátoři jsme jen jakýmiisi „biokatalyzátory“, snižujeme energetickou bariéru pro výše uvedené budování mostů mezi lidmi, a doufáme, že se nám to alespoň někde povede. Ještě jednou tedy všem účastníkům, ale i hostům a partnerům, moc děkujeme!

Na závěr mi nezbývá než shrnout v duchu „Král je mrtev, ať žije král“, že 74. sjezd chemiků je minulost, ale všichni se již teď mohou těšit na 75. sjezd chemiků, který se uskuteční tradičně v prostředí Vysokých Tater ve dnech 4.–8. září 2023 (cit.<sup>4</sup>).

Jan Petr  
(za organizátory 74. sjezdu chemiků)

## LITERATURA

1. Cibulka R.: *Eur. J. Org. Chem.* 5, 915 (2015).
2. Havlíček V., Lemr K., Tureček F.: *Chem. Listy* 114, 85 (2020).
3. sjezd74.csch.cz; staženo 10. 10. 2022.
4. 75zjazd.schems.sk; staženo 10. 10. 2022.

- Petr J.: *Chem. Listy* 116, 661 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220661>

# EUKARYOTICKÉ MIKROORGANISMY JAKO BIOLOGICKÉ TOVÁRNY NA PŘÍPRAVU NANOČÁSTIC KOVŮ

ANNA MIŠKOVSKÁ a ALENA ČEJKOVÁ

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

Došlo 17.6.22, přijato 13.7.22.

Klíčová slova: nanočástice kovů, biologická syntéza, mikroskopické vláknité houby, kvasinky, řasy

● <https://doi.org/10.54779/chl20220662>

## Obsah

1. Úvod
2. Mikroskopické vláknité houby
  - 2.1. *Fusarium*
  - 2.2. *Trichoderma*
  - 2.3. *Penicillium*
  - 2.4. Ostatní
3. Kvasinky
4. Mikroskopické řasy
5. Závěr

## 1. Úvod

Nanotechnologie je rychle se vyvíjející vědní obor, který je považován za jednu z klíčových technologií 21. století<sup>1</sup>. Jedná se o technologii vývoje a výroby nových struktur a materiálů s alespoň jedním rozměrem spadajícím do rozmezí 1–100 nm (1 nm = 10<sup>-9</sup> m) (cit.<sup>2</sup>). Právě malý rozměr činí nanomateriály pro mnoho oblastí tak jedinečnými, jelikož materiály v nanoměřítku často nabývají zcela odlišných fyzikálně-chemických vlastností v porovnání s jejich makroskopickými protějšky. Tyto rozdílné vlastnosti jsou výsledkem výrazně vyššího poměru povrchu ku objemu nanomateriálů, což má za následek vyšší reaktivitu ve srovnání s výchozími makromateriály<sup>3</sup>. Oblast nanotechnologie je velmi široká a zahrnuje práci s nanoobjekty různých materiálů jak organických např. lipidové nanočástice či nanočástice polymerů (např. lignin, škrob, chitosan), tak anorganických např. nanočástice kovů (např. Ag, Au, Fe, Pt), polovodičové nanočástice (např. Si, CdS, PbS) či nekovové nanočástice (např. grafen, fulleren). V tomto příspěvku bychom se rády věnovaly nanotechnologiím týkajícím se kovových nanočástic, které díky svým jedinečným vlastnostem nalézají uplatnění v různých odvětvích včetně medicíny, zemědělství, textilního průmyslu nebo elektroniky<sup>3</sup>.

Rostoucí zájem o kovové nanočástice motivoval vědce k výzkumu a vývoji nových, udržitelných metod výroby, které by byly šetrné k životnímu prostředí a zároveň by nebyly nákladné. To vedlo ke vzniku termínů, jako jsou „nano-biotechnologie“ či „bio-nanotechnologie“, které odkazují na využití biologických systémů pro výrobu nanočástic<sup>1</sup>. Tradičně jsou nanočástice kovů připravovány chemickými procesy nebo fyzikálními metodami. Chemické přístupy obvykle spočívají v redukci kovových iontů pomocí různých chemických redukčních činidel (např. NaBH<sub>4</sub> při přípravě Ag nanočástic) a následně stabilizaci vznikajících nanočástic pomocí stabilizačních látek. Naproti tomu fyzikální metody často vytvářejí nanočástice zmenšováním částic materiálu, např. mletím, až do nanoměřítku. Tyto tradiční přístupy často pracují při vysokých teplotách, tlaku, nebo používají drahé a toxické chemikálie<sup>4</sup>. Biologické postupy obvykle uplatňují principy tzv. „zelené chemie“ a umožňují jednoduše získat nanočástice o velmi dobré stabilitě a zajímavých fyzikálně-chemických vlastnostech. Dlužno říci, že i některé nebiologické metody syntézy mohou splňovat zásady zelené chemie – např. redukce pomocí citrátu či askorbátu<sup>5</sup>.

Jako biologický systém mohou být využívány např. mikroorganismy (bakterie, kvasinky, vláknité houby, mikroskopické řasy) nebo rostliny. Tato práce má za cíl představit eukaryotické mikroorganismy jako zdroje perspektivních biologických činitelů pro výrobu nanočástic kovů. Cílem je seznámit čtenáře s hlavními zástupci vláknitých hub, kvasinek a mikroskopických řas používanými k syntéze kovových nanočástic.

## 2. Mikroskopické vláknité houby

Velká část výzkumu biosyntézy nanočástic kovů pomocí mikroorganismů je zaměřena na použití mikroskopických vláknitých hub. Ve srovnání s ostatními mikroorganismy produkuje tato skupina větší množství extracelulárních proteinů, enzymů a dalších biomolekul, které se aktivně mohou účastnit redukce kovů, a také se podílejí na stabilizaci vznikajících nanočástic<sup>6–8</sup>. Zvýšená produkce extracelulárních enzymů (např. nitrátreduktasy, acetylxylosterasy, celobiohydrolasy D, glukosidasy a β-glukosidasy) je významná především při přípravě kovových nanočástic mimobuněčně<sup>9</sup>. Shluky mycelií mikroskopických vláknitých hub jsou také ve srovnání s jinými mikroorganismy odolnější pro vyšší průtok a míchání v bioreaktorech<sup>10</sup>. Dalšími výhodami použití mikroskopických hub jsou jednoduché dokončovací procesy, snadný „scale-up“ a vysoká absorpční kapacita buněk pro kovy<sup>6,11,12</sup>.

Nanočástice kovů byly úspěšně syntetizovány za pomoci rodů, jako jsou *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Verticillium* či *Rhizopus*<sup>6,13</sup>.

### 2.1. *Fusarium*

Velmi intenzivně je zkoumána biosyntéza za použití zástupců rodu *Fusarium*, pomocí kterého byly úspěšně připraveny nanočástice kovů, jako jsou stříbro, zlato, železo, titan, platina, zinek, zirkonium a kadmium<sup>7,11,14,15</sup>. Přestože někteří zástupci tohoto rodu produkují mykotoxiny a patří mezi fytopatogeny, jsou považováni za slibné kandidáty převažující nevýhodu fytopatogenity svým biodegradačním potenciálem a především vylučováním velkého množství bílkovin<sup>15</sup>. Velké množství studií se věnuje přípravě nanočástic pomocí *F. oxysporum*. Syed s kolegy<sup>16</sup> pro biosyntézu použili promyté mycelium *F. oxysporum* suspendované do 1mM vodného roztoku  $H_2PtCl_6$  a tuto směs kultivovali při pokojové teplotě, čímž získali sférické nanočástice platiny o velikosti 5–30 nm. V jiných studiích byl zkoumán biosyntetický potenciál *F. solani*, o kterém je známo, že dokáže rychle růst na půdách kontaminovaných těžkými kovy. Pomocí vodného bezbuněčného extraktu této houby se podařilo připravit nanočástice stříbra (8–19 nm), mědi (10–20 nm) a zinku (9–22 nm), u kterých byla prokázána antibakteriální aktivita vůči několika lidským patogenům<sup>17</sup>.

### 2.2. *Trichoderma*

Zajímavým přístupem k biosyntéze nanočástic kovů je použití nepatogenních hub rodu *Trichoderma*. Mezi velmi perspektivní zástupce patří *T. reesei*, která mezi houbami vyniká svou schopností produkovat opravdu širo-

kou škálu enzymů a dalších metabolitů (včetně celulytického komplexu), a jehož použití je shledáno jako bezpečné jak biologicky, tak pro životní prostředí<sup>13</sup>. Výzkum biosyntézy nanočástic kovů pomocí *T. reesei* je zaměřen především na přípravu stříbrných nanočástic. Vahabi s kolegy<sup>13</sup> použili k biosyntéze nanočástic promyté mycelium této houby a smícháním s roztokem dusičnanu stříbrného získali extracelulární nanočástice stříbra o rozměrech 5–50 nm. Jiní významní zástupci tohoto rodu zahrnují např. *T. viride* a *T. harzianum*, kteří jsou proslulí jako biokontrolní agens používaná v komerčně dostupných přípravcích k ochraně kořenového systému zemědělsky využívaných rostlin před fytopatogeny<sup>18</sup>. V nedávné studii Manikandaselvi s kolegy<sup>19</sup> srovnali účinky stříbrných nanočástic připravených pomocí vodného bezbuněčného extraktu *T. viride* s účinky samotného izolátu této mykoparazitické houby vůči dvěma rostlinným patogenům. Výsledky studie ukázaly, že takto připravené nanočástice mají vyšší antibakteriální aktivitu než působení samotného izolátu *T. viride*. Výhodou potenciálního použití nanočástic oproti samotné houbě je dobrá rozpustnost a stabilita, jež jsou pro aplikace biokontrolních činidel klíčové.

### 2.3. *Penicillium*

Dalším ze zkoumaných rodů mikroskopických vláknitých hub jako potenciálních producentů nanočástic je *Penicillium*. Přestože někteří zástupci tohoto rodu produkují mykotoxiny, řada druhů těchto hub je dobře poznána a některé jsou v současné době běžně využívány

Tabulka I

Syntéza nanočástic kovů pomocí mikroskopických vláknitých hub (NP – nanočástice z angl. nanoparticle)

Mikroskopické vláknité houby	Typ NP	Velikost	Aplikace	Lit.
<i>Rhizopus stolonifer</i>	Ag	9,5 nm	–	33
<i>Fusarium solani</i>	Ag	7,7–18,9 nm	antibakteriální	17
	Cu	10–19,5 nm		
	ZnO	8,6–21,8 nm		
<i>Fusarium oxysporum</i>	Au	100 nm	–	34
<i>Fusarium oxysporum</i>	Ti	6–13 nm	–	35
<i>Fusarium oxysporum</i>	Pt	5–30 nm	–	16
<i>Fusarium scirpi</i>	Ag	2–20 nm	antibakteriální	36
<i>Verticillium luteoalbum</i>			–	
	Au	100 nm		34
<i>Verticillium dahliae</i>	Au	< 10 nm	–	34
<i>Trichoderma reesei</i>	Ag	5–50 nm	–	13
<i>Trichoderma viride</i>	Ag	100+ nm	antifungální	19
<i>Trichoderma harzianum</i>	Au	32–44 nm	antibakteriální, katalýza	37
<i>Trichoderma atroviride</i>	Ag	15–25 nm	antimikrobiální, protirakovinné	38
<i>Penicillium purpurogenum</i>	Ag	8–10 nm	antibakteriální	21
<i>Aspergillus terreus</i>	ZnO	10–45 nm	antibakteriální, cytotoxicita, textilní průmysl	39
<i>Aspergillus niger</i>	Ag	~20 nm	antibakteriální	40
<i>Aspergillus oryzae</i>	Fe	10–25 nm	–	41

v potravinářském a farmaceutickém průmyslu. Dosud bylo poznáno minimálně 25 druhů *Penicillium* schopných syntetizovat nanočástice kovů. Většina studií se týká biosyntézy nanočástic stříbra<sup>20</sup>. Monodisperzní částice tohoto kovu o rozměrech 8–10 nm byly připraveny pomocí bezbuněčného vodního extraktu *P. purpurogenum*<sup>21</sup>. Zbytek studií pak zmiňuje především přípravu nanočástic zlata, mědi a stříbra<sup>22–24</sup>.

#### 2.4. Ostatní

Nanočástice kovů se však podařilo připravit i za pomoci mnoha dalších zástupců mikroskopických vláknitých hub. Například lze uvést rod *Aspergillus*, pomocí kterého byly syntetizovány nanočástice stříbra, zlata, zinku, železa a kobaltu<sup>6,14</sup>. Následující tabulka obsahuje přehled vybraných zástupců mikroskopických vláknitých hub, použitých k biosyntéze nanočástic kovů (tab. I).

### 3. Kvasinky

Napříč eukaryoty patří kvasinky k nejstudovanějším a nejhodněji používaným mikroorganismům v mnoha biotechnologických procesech<sup>12</sup>. Bylo zjištěno, že kvasinky mají schopnost absorbovat a akumulovat ze svého okolí vysoké koncentrace iontů toxických kovů. Právě v rámci detoxikačních mechanismů může dojít k biomineralizaci iontů za vzniku nanočástic příslušného kovu, což z kvasinek činí kandidáty vhodné ke studiu schopnosti průmyslové produkce nanočástic kovů<sup>4</sup>. Kvasinky jsou známé zejména biosyntézou polovodičových nanočástic sulfidu kadmenného (CdS) a sulfidu olovnatého (PbS), ale byly pomocí nich připraveny i nanočástice kovů, jako je stříbro, zlato, titan, zinek či palladium<sup>6,12</sup>. Zmíněné polovodičové nanočástice se podařilo připravit např. kultivací kvasinky *Schizosaccharomyces pombe* v roztoku obsahujícím kadmenné ionty (ve formě 1 mM CdS). Tímto způsobem byly připraveny intracelulární nanočástice CdS o velikosti 1–1,5 nm (cit.<sup>25</sup>).

Úspěšná biosyntéza nanočástic pomocí kvasinek byla provedena použitím zástupců rodů *Schizosaccharomyces*, *Saccharomyces*, *Yarrowia*, *Candida*, *Pichia* a *Rhodotorula*<sup>4,11,12</sup>. Podrobnější přehled uvádí tab. II.

### 4. Mikroskopické řasy

Řasy jsou v současné době komerčně využívány v potravinářství, farmacii, jako přísady do kosmetiky a krmiv nebo jako hnojiva a v posledních letech nabývají významu také v oblasti zelených nanotechnologií. Pro biotechnologické postupy přípravy nanočástic kovů jsou řasy zajímavé především proto, že jsou bohatým zdrojem sekundárních metabolitů, dají se snadno kultivovat, rychle rostou a navíc bývají vznikající nanočástice vzhledem k používání netoxických řas biokompatibilní<sup>26</sup>. Nejčastěji jsou z hlediska biosyntézy nanočástic studovány řasy zelené, hnědé (chaluhy) a červené (ruduchy), a dále bude v tomto textu popsána také biosyntéza nanočástic pomocí fotosyntetizujících prokaryot tzv. sinic, které bývají v odborných textech často součástí kapitol týkajících se biosyntézy kovových nanočástic zprostředkované řasami<sup>6,26</sup>.

V souvislosti s biosyntézou nanočástic kovů bylo studováno mnoho zástupců zmíněných skupin řas, výběr některých z nich (patřících mezi jednobuněčné zástupce) je prezentován v tab. III na konci kapitoly. Výsledky experimentů naznačují, že řasy jsou v této oblasti perspektivními biočiniteli, pomocí kterých by mohla být zavedena udržitelná, nákladově efektivní výroba nanočástic nezátěžující životní prostředí. V řasami zprostředkované biosyntéze kovových nanočástic jsou redukčními a stabilizačními biomolekulami pigmenty (chlorofyly, fykobiliny, karotenoidy), minerály, oleje, sacharidy, tuky a mnohé bílkoviny<sup>26</sup>.

Příkladem biosyntézy nanočástic pomocí jednobuněčných hnědých řas může být použití rozsivek. Pomocí kultivace rozsivky *Navicula atomus* v přítomnosti H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> byly získány nanočástice zlata o velikosti 1–29 nm (cit.<sup>27</sup>).

Tabulka II

Syntéza nanočástic kovů pomocí kvasinek (NP – nanočástice z angl. nanoparticle)

Kvasinky	Typ NP	Velikost	Aplikace	Lit.
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	CdS	1–1,5 nm	diody	25
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	CdS	2–6 nm	–	42
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ag	2–20 nm	–	43
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ZnS	30–40 nm	–	44
<i>Saccharomyces boulardii</i>	Ag	3–10 nm	protirakovinné	45
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Ag	~10 nm	antibiofilmové	46
<i>Candida glabrata</i>	Ag	2–15 nm	antimikrobiální	47
<i>Candida glabrata</i>	CdS	–	–	48
<i>Pichia pastoris</i>	Au	~100 nm	protirakovinné	49
	Pd	~100 nm		
<i>Rhodotorula glutinis</i>	Ag	5–45 nm	antimikrobiální, katalýza	50



Tabulka III

Syntéza nanočástic kovů pomocí mikroskopických řas a sinic (NP – nanočástice z angl. nanoparticle)

Řasy	Typ NP	Velikost	Aplikace	Lit.
<b>Hnědé řasy</b>				
<i>Navicula atomus</i>	Au	5–39 nm	–	27
<i>Diademesmis gallica</i>	Au	1–29 nm	–	
<i>Stephanopyxis turris</i>	Au	<50 nm	–	51
<b>Červené řasy</b>				
<i>Porphyridium purpureum</i>	Ag	–	–	28
<b>Zelené řasy</b>				
<i>Chlorella vulgaris</i>	Pd	5–20 nm	–	52
<i>Chlorella vulgaris</i>	Ag	3–15 nm	antibakteriální	53
<i>Chlorella vulgaris</i>	ZnO	20–50 nm	fotokatalýza	54
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Ag	5–20 nm	antibakteriální, fotokatalýza	55
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	CdSe	2–6 nm	nanoprobe	29
<i>Scenedesmus obliquus</i>	CdSe	2–6 nm	nanoprobe	
<i>Dunaliella salina</i>	Ag	1–30 nm	protirakovinné	30
<i>Dunaliella salina</i>	Au	5–45 nm	protirakovinné	56
<i>Rhizoclonium fontinale</i>	Au	–	–	57
<i>Euglena gracilis</i>	Ag	15–60 nm	–	58
<b>Sinice</b>				
<i>Spirulina platenesis</i>	Au	16–77 nm	antivirové	59
<i>Spirulina platenesis</i>	Au	2–8 nm	antibakteriální	31
<i>Spirulina platenesis</i>	Ag	30–50 nm	antibakteriální	32

Zajímavé bylo, že přestože bylo kapalně médium zabarvené typickou barvou pro zlaté nanočástice, po oddělení biomasy od kapalně složky byla přítomnost nanočástic detekována (UV-Vis) pouze v peletě buněk.

Z jednobuněčných červených řas je v biotechnologiích nejrozšířenější a nejstudovanější rod *Porphyridium*, hlavní komerční producent barviv fykoerithrinu a fykocyaninu, pomocí kterého se podařilo připravit nanočástice stříbra<sup>28</sup>.

Ze všech druhů řas jsou však pro biosyntézu nanočástic kovů nejčastěji studovány zelené řasy. Mezi významné jednobuněčné zástupce těchto mikroorganismů patří *Chlorella*, která byla studována především v souvislosti s biosyntézou nanočástic stříbra, zlata, palladia, zinku a kadmia (kvantové tečky)<sup>4,6,29</sup>. Zhang s kolegy<sup>29</sup> připravili pomocí dvou druhů zelených řas monodisperzní částice CdSe (2–6 nm) s biomedicínským potenciálem nanoznaček pro detekci léčiva imatinib. Dalším perspektivním mikroorganismem patřícím do skupiny jednobuněčných zelených řas je extrémofil *Dunaliella salina*. Pomocí vodného extraktu tohoto mikroorganismu byly připraveny nanočástice stříbra (1–30 nm), které měly protirakovinné účinky v mnoha ohledech srovnatelné s účinky cis-platiny<sup>30</sup>. V současnosti je však známo mnoho dalších mikroskopických zelených řas schopných syntetizovat nanočástice kovů (*Pithophora*, *Chlorococcum*, *Euglena* a další)<sup>26</sup>.

Schopnost syntetizovat nanočástice byla studována také u sinic. Z těchto prokaryotických mikroorganismů je biotechnologicky nejvýznamnější rod *Arthrospira* (dříve nazvaný *Spirulina*), který je známý pro své blahodárné účinky na lidské zdraví. Pomocí tohoto rodu byly syntetizovány např. nanočástice stříbra a zlata<sup>31,32</sup>.

## 5. Závěry

Nanočástice kovů syntetizované pomocí mikroskopických hub a řas mají dle dosavadních studií potenciál pro řadu aplikací včetně medicíny. Obrovská škála možných producentů spolu s možnou změnou podmínek syntézy, jako jsou pH, množství biomasy, vstupní koncentrace kovového prekursoru, či teplota, umožňují produkci nepřehledného množství kovových nanočástic různých fyzikálně-chemických vlastností. Pro výrobu v průmyslovém měřítku je zásadní výběr vhodných mikroorganismů, a také je nutné zvážit monodisperzitu, velikost a tvar vznikajících nanočástic. Většina studií je však prováděna v laboratorním měřítku, kde bývají parametry mikrobiálního růstu poměrně snadno zachovány a výzvou tak prozatím zůstává převedení do většího měřítku, tak aby byly všechny parametry kultivace a vlastnosti vznikajících nanočástic zachovány.

*Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt č. A2\_FPBT\_2022\_018.*

## LITERATURA

- Abdel-Aziz S. M., Prasad R., Hamed A. A., Abdelraof M., v knize: *Fungal Nanobionics: Principles and Applications*, str. 61. Springer, Berlin 2018.
- Shah S. S., Shaikh M. N., Khan M. Y., Alfasane M. A., Rahman M. M., Aziz M. A.: *The Chemical Record* 21, 1631 (2021).
- Mařátková O., Michilidu J., Miškovská A., Kolouchová I., Masák J., Čejková A.: *Biotechnol. Adv.* 107905 (2022).
- Gahlawat G., Choudhury A. R.: *RSC Adv.* 9, 12944 (2019).
- Adil S. F., Assal M. E., Khan M., Al-Warthan A., Siddiqui M. R. H., Liz-Marzán L. M.: *Dalton Trans.* 44, 9709 (2015).
- Salem S. S., Fouda A.: *Biol. Trace Elem. Res.* 1 (2020).
- Jeyaraj M., Gurunathan S., Qasim M., Kang M.-H., Kim J.-H.: *Nanomaterials* 9, 1719 (2019).
- Guilger-Casagrande M., Lima R. d.: *Front. Bioeng. Biotechnol.* 7, 287 (2019).
- Ovais M., Khalil A. T., Ayaz M., Ahmad I., Nethi S. K., Mukherjee S.: *Int. J. Mol. Sci.* 19, 4100 (2018).
- Saravanan A., Kumar P. S., Karishma S., Vo D.-V. N., Jeevanantham S., Yaashikaa P., George C. S.: *Chemosphere* 264, 128580 (2021).
- Prasad R., Pandey R., Barman I.: *Wiley Interdiscip. Rev.: Nanomed. Nanobiotechnol.* 8, 316 (2016).
- Hulkoti N. I., Taranath T.: *Colloids Surf., B* 121, 474 (2014).
- Vahabi K., Mansoori G. A., Karimi S.: *Insciences J.* 1, 65 (2011).
- Bakshi M., Mahanty S., Chaudhuri P., v knize: *Handbook of Metal-Microbe Interactions and Bioremediation*. kap. 25, str. 423. CRC Press, Boca Raton 2017.
- Gupta K., Chundawat T. S.: *Biomass Bioenergy* 143, 105840 (2020).
- Syed A., Ahmad A.: *Colloids Surf. B. Biointerfaces* 97, 27 (2012).
- Sayed M. T. E., El-Sayed A. S.: *J. Microbiol. Biotechnol.* 30, 226 (2020).
- Zin N. A., Badaluddin N. A.: *Ann. Agric. Sci.* 65, 168 (2020).
- Manikandaselvi S., Sathya V., Vadivel V., Sampath N., Brindha P.: *Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol.* 11, 035004 (2020).
- Barabadi H., Tajani B., Moradi M., Kamali K. D., Meena R., Honary S., Mahjoub M. A., Saravanan M.: *J. Cluster Sci.* 30, 1 (2019).
- Nayak R. R., Pradhan N., Behera D., Pradhan K. M., Mishra S., Sukla L. B., Mishra B. K.: *J. Nanopart. Res.* 13, 3129 (2011).
- Du L., Xian L., Feng J.-X.: *J. Nanoparticle Res.* 13, 921 (2011).
- El-Batal A. I., El-Sayyad G. S., Mosallam F. M., Fathy R. M.: *J. Cluster Sci.* 31, 79 (2020).
- Yassin M. A., Elgorban A. M., El-Samawaty A. E.-R. M., Almunqedhi B. M.: *Saudi J. Biol. Sci.* 28, 2123 (2021).
- Kowshik M., Deshmukh N., Vogel W., Urban J., Kulkarni S. K., Paknikar K.: *Biotechnol. Bioeng.* 78, 583 (2002).
- Chaudhary R., Nawaz K., Khan A. K., Hano C., Abbasi B. H., Anjum S.: *Biomolecules* 10, 1498 (2020).
- Schröfel A., Kratošová G., Bohunická M., Dobročka E., Vávra I.: *J. Nanopart. Res.* 13, 3207 (2011).
- Bunghuz I.-R., Ion R.-M., Velea S., Ilie L., Fierascu R.-C., Dumitriu I., Dinu A., Troncea S., v knize: *Advanced Topics in Optoelectronics, Microelectronics, and Nanotechnologies V*, str. 428. SPIE, United States 2010.
- Zhang Z., Chen J., Yang Q., Lan K., Yan Z., Chen J.: *Sens. Actuators, B* 263, 625 (2018).
- Singh A. K., Tiwari R., Kumar V., Singh P., Khadim S. R., Tiwari A., Srivastava V., Hasan S., Asthana R.: *J. Photochem. Photobiol., B* 166, 202 (2017).
- Suganya K. U., Govindaraju K., Kumar V. G., Dhas T. S., Karthick V., Singaravelu G., Elanchezhian M.: *Mater. Sci. Eng., C* 47, 351 (2015).
- Sharma G., Jasuja N. D., Kumar M., Ali M. I.: *J. Nanotechnol.* 2015, 132675 (2015).
- AbdelRahim K., Mahmoud S. Y., Ali A. M., Almaary K. S., Mustafa A. E.-Z. M., Husseiny S. M.: *Saudi J. Biol. Sci.* 24, 208 (2017).
- Gericke M., Pinches A.: *Hydrometallurgy* 83, 132 (2006).
- Bansal V., Rautaray D., Bharde A., Ahire K., Sanyal A., Ahmad A., Sastry M.: *J. Mater. Chem.* 15, 2583 (2005).
- Rodríguez-Serrano C., Guzmán-Moreno J., Ángeles-Chávez C., Rodríguez-González V., Ortega-Sigala J. J., Ramírez-Santoyo R. M., Vidales-Rodríguez L. E.: *PLoS One* 15, e0230275 (2020).
- Tripathi R. M., Shrivastav B. R., Shrivastav A.: *IET Nanobiotechnol.* 12, 509 (2018).
- Saravanakumar K., Wang M.-H.: *Microb. Pathog.* 114, 269 (2018).
- Fouda A., Saad E., Salem S. S., Shaheen T. I.: *Microb. Pathog.* 125, 252 (2018).
- Gade A., Bonde P., Ingle A., Marcato P., Duran N., Rai M.: *J. Biobased Mater. Bioenergy* 2, 243 (2008).
- Tarafdar J. C., Raliya R.: *J. Nanopart.* 2013, 141274 (2013).
- Al-Shalabi Z., Doran P. M.: *J. Biotechnol.* 223, 13 (2016).
- Korbekandi H., Mohseni S., Mardani Jouneghani R., Pourhossein M., Irvani S.: *Artif. Cells, Nanomed., Biotechnol.* 44, 235 (2016).
- Mala J. G. S., Rose C.: *J. Biotechnol.* 170, 73 (2014).
- Kaler A., Jain S., Banerjee U. C.: *Biomed. Res. Int.* 2013, 872940 (2013).
- Apte M., Sambre D., Gaikwad S., Joshi S., Bankar A., Kumar A. R., Zinjarde S.: *AMB Express* 3, 32 (2013).

47. Jalal M., Ansari M. A., Alzohairy M. A., Ali S. G., Khan H. M., Almatroudi A., Raees K.: *Nanomaterials* 8, 586 (2018).
48. Dameron C. T., Winge D. R.: *Trends Biotechnol.* 8, 3 (1990).
49. Elahian F., Heidari R., Charghan V. R., Asadbeik E., Mirzaei S. A.: *Artif. Cells, Nanomed., Biotechnol.* 48, 259 (2020).
50. Cunha F. A., da CSO Cunha M., da Frota S. M., Mallmann E. J., Freire T. M., Costa L. S., Paula A. J., Menezes E. A., Fachine P. B.: *World J. Microbiol. Biotechnol.* 34, 127 (2018).
51. Pytlík N., Kaden J., Finger M., Naumann J., Wanke S., Machill S., Brunner E.: *Algal Res.* 28, 9 (2017).
52. Arsiya F., Sayadi M. H., Sobhani S.: *Mater. Lett.* 186, 113 (2017).
53. da Silva Ferreira V., ConzFerreira M. E., Lima L. M. T., Frases S., de Souza W., Sant'Anna C.: *Enzyme Microb. Technol.* 97, 114 (2017).
54. Khalafi T., Buazar F., Ghanemi K.: *Sci. Rep.* 9, 1 (2019).
55. Aziz N., Faraz M., Pandey R., Shakir M., Fatma T., Varma A., Barman I., Prasad R.: *Langmuir* 31, 11605 (2015).
56. Singh A. K., Tiwari R., Singh V. K., Singh P., Khadim S. R., Singh U., Srivastava V., Hasan S., Asthana R.: *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 51, 164 (2019).
57. Parial D., Pal R.: *J. Appl. Phycol.* 27, 975 (2015).
58. Li X., Schirmer K., Bernard L., Sigg L., Pillai S., Behra R.: *Environ. Sci. Nano* 2, 594 (2015).
59. El-Sheekh M. M., Shabaan M. T., Hassan L., Morsi H. H.: *Int. J. Environ. Health Res.* 32, 616 (2020).

**A. Miškovská and A. Čejková** (*Department of Biotechnology, University of Chemistry and Technology Prague, Czech Republic*): **Eukaryotic Microorganisms as Biological Factories for the Preparation of Metal Nanoparticles**

The use of microorganisms as reducing and stabilizing agents in biogenic syntheses of metal nanoparticles is an attractive approach. There is a large number of potential bioagents able to yield big amounts of various biomolecules, and to prepare nanoparticles of diverse physicochemical properties. Microscopic fungi and algae are widely studied for the preparation of nanoparticles, mainly because of their ability to produce vast amounts of extracellular proteins, enzymes, and other metabolites that can actively participate in the metal reduction and also contribute to the nanoparticle stabilization. This results in highly stable metal nanoparticles with interesting properties that can be used, for example, as antimicrobial agents (especially Ag or Cu nanoparticles) or as catalysts. This review summarizes the main, promising representatives of microscopic fungi, yeasts, and algae used for the preparation of nanoparticles of various metals.

**Keywords:** metal nanoparticles, biogenic synthesis, microscopic fungi, yeasts, algae

● Miškovská A., Čejková A.: *Chem. Listy* 116, 662–667 (2022).

● <https://doi.org/10.54779/chl20220662>

*Acknowledgements*

*This project was supported from the grant of Specific university research – grant No. A2\_FPBT\_2022\_018.*

## O CHMELOVÝCH HLÁVKÁCH DO ZLATAVÉHO MOKU

MICHAL JURÁŠEK<sup>a</sup>, ADOLF RYBKA<sup>b</sup>,  
LUBOMÍR OPLETAL<sup>c</sup> a PAVEL DRAŠAR<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6-Dejvice,

<sup>b</sup> Katedra zemědělských strojů, Technická fakulta, Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 165 00 Praha 6-Suchbát, <sup>c</sup> Katedra farmakognozie a farmaceutické botaniky, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové

michal.jurasek@gmail.com, rybka@tf.czu.cz,  
opletal@faf.cuni.cz, drasarp@vscht.cz

Došlo 18.7.22, přijato 25.8.22.

Klíčová slova: chmel, pivo, biologická aktivita, lidové léčitelství

• <https://doi.org/10.54779/chl20220668>

Chmel otáčivý<sup>1</sup> (*Humulus lupulus* L., obr. 1) je vytrvalá dvoudomá pravotočivá popínavá liána z čeledi konopitých (Cannabaceae). Je pěstován od nepaměti a lze najít, že za starých časů byl používán jako bylina mnohého užití, jako např. k barvení vlasů (česáči chmele potvrdí pohledem na své ruce), k „čištění krve“, jako krmivo pro dobytek, k výrobě lan, látek a papíru, pro balení křehkých předmětů a i k „odpuzování démonů“ v noci<sup>3</sup>.

Pokud se týče použití chmele v humánní medicíně, již Dioscorides<sup>4</sup> radí přimíchávání do hmoty na přípravu čípků, do mastí s adstringentními účinky, do parfémů, do léčivých přípravků k odstranění únavy, dále pak použití chmele v odvarech na koupele za tepla nebo za studena v okolí ženského přirození; poslední doporučuje i Matthioli<sup>5</sup>, např. proti „otoku a tvrdosti lůna“. Jarní salát z výhonků považuje za dobrý prostředek k „otevření zacpaných jater“ (zřejmě prostředek pro uvolnění žluči); jinak chmelem léčí mj. žloutenku, malomocenství, francouzskou nemoc. Pak tvrdí: „pítí odvaru vršků chmelových činí tělo pěkným“, což i dnes lze vidět na pivařích. Též vnitřně pomáhá ke

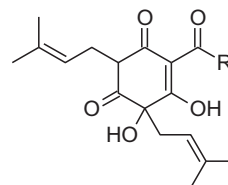


Obr. 1. Chmel otáčivý (*Humulus lupulus* L., cit.<sup>2</sup>)

zmírnění pohlavního pudu (anafrodiziakum)<sup>6</sup>, kupodivu i v homeopatických přípravcích (dokonce i proti „bolestivým erekcím“<sup>7</sup>). V lidovém léčitelství se také využívá jako sedativum a prostředek povzbuzující chuť k jídlu. Pomáhá proti nespavosti, působí močopudně a užívá se při křečích svalů<sup>8</sup>. Používá se při potížích v menopauze ke zlepšení psychického stavu. Příznivě působí na hladinu cholesterolu v krvi. Evropská encyklopedie léčivých bylin uvádí<sup>9</sup> mnohé použití a účinky, mj. i jako léčivou drogu s estrogenní aktivitou. Droga je používána pro zmírnění slabších příznaků psychického stresu a k navození spánku.

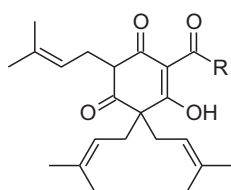
Chmel není u nás příliš znám jako potravinu, nicméně je to jedno z nejstarších a tradičních využití rostliny<sup>10</sup>, je konzumován na jaře, podobně jako chřest, kdy se sbírají mladé chmelové výhonky (pazoušky). Ty pak jsou křehkou zeleninou a jsou užívány, divoké i pěstované, buď jako salát nebo jako vařené (podobně chřestu) nebo jako nakládané. Po uvaření mají mladé výhonky nízký obsah tuku, energetickou hodnotu (104 kJ/100 g) a jsou dobrým zdrojem vlákniny. Obsahují vitamin C a kyselinu listovou, ale i kyselinu šťavelovou. Výhonky mají krátkou trvanlivost, proto by měly být spotřebovány krátce po sklizni<sup>11</sup>. Dnes patří k nejdražším zeleninám svého typu, protože jeden výhonek délky do 10 cm váží pouze cca 1 gram. Starší části rostliny již jedlé nejsou, ale poslouží k dekoraci svým aroma.

Nejvíce použití nalézá samotná léčivá droga: chmelové hlávky (vejčité šištice samičího květenství; světle zelená šišticovitá plodenství), *Lupuli flos* (jsou to usušená, zpravidla celá samičí květenství druhu *Humulus lupulus* L.), *Flores lupuli* (chmelové květy), *Fructus lupuli* (chmelový plod), *Strobuli lupuli* (chmelové šištice), skládající se z až 2 cm dlouhých šupin se zlatožlutými lupulinovými žlázkami (*Glandulae lupuli* nebo *Lupulinum* (lupulin). Chmelové hlávky slouží zejména k výrobě piva<sup>12</sup>. Droga obsahuje floroglucinoly (do 20 %), a to humulonový typ (=  $\alpha$ -kyseliny, do ~17 %), tj. humulon, kohumulon, prehumulon, posthumulon, adhumulon (obr. 2),



humulon	R = CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
kohumulon	R = CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
adhumulon	R = CH(CH <sub>3</sub> )CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
prehumulon	R = CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
posthumulon	R = C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>

Obr. 2. Chmelové  $\alpha$ -hořké kyseliny



lupulon	R = CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
kolupulon	R = CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
adlupulon	R = CH(CH <sub>3</sub> )CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
prelupulon	R = CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>

Obr. 3. Chmelové β-hořké kyseliny

a lupulonový typ (= β-kyseliny, do ~10 %), tj. lupulon, kolupulon, prelupulon, postlupulon a adlupulon (obr. 3). Dále pak silici (0,5–3 %), obsahující β-myrcen (monoterpen), β-karyofylen, humulen (seskviterpeny) tvoří 57–82% podíl v silici, dále flavonoidy (0,5–1,5 %) – prenylované flavanony: 6-prenylnaringenin, 8-prenylnaringenin, isoxanthohumol) a chalkony: xanthohumol, desmethylxanthohumol. Droga obsahuje polysacharidy (50–60 %), nalézá se zde i 2–6 % tříslovin a dusíkaté látky<sup>6</sup>, cholin či adenin. Z chmele bylo dosud izolováno a charakterizováno více než 1000 sloučenin<sup>9</sup>. Pokud se týče aromatických látek, lze z hlávek získat extrakci či destilaci s vodní parou velmi aromatický produkt, který je již vyráběn od časného 19. století.

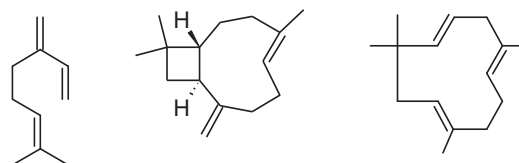
Směs těkavých složek (silice) a pryskyřic chmele (oleopryskyřice 3–20 %) sestává<sup>9</sup> z různých prenylovaných derivátů florogluciolu zvaných „hořké kyseliny“. Jsou klasifikovány buď jako „α-kyseliny“ nebo „β-kyseliny“, které se rozlišují skutečností, že ty první jsou vysráženy z hrubého extraktu chmele přidáním octanu olovnatého. β-Kyseliny by podle definice měly zůstat v roztoku. α-Kyseliny jsou humulony (2–12 % sušených šištic), zatímco β-kyseliny se nazývají lupulony (1–10 % sušených šištic). α-Kyseliny jsou považovány za nejdůležitější složky při určování kvality chmele. Přispívají ke stabilitě pěny a také k antibakteriálním vlastnostem. I když jsou považovány za hlavní „hořké kyseliny“ z chmele, paradoxně nemají hořkou chuť, a to ani při koncentracích 100 μg ml<sup>-1</sup>.

Chmelové α-kyseliny (humulony) isomerizují na odpovídající „iso-α-kyseliny“ za různých reakčních podmínek, např. při vyšších hodnotách pH. Tyto hořké iso-α-kyseliny jsou artefakty a tvoří více než 80 % látek z chmele, obsažených v typických pivech. Mohou být i oxidovány na humulinony a 4'-hydroxyallohumulinony. Za stejných okolností jsou β-kyseliny (lupulony) transformovány na tzv. hulupony.

Z uvedených důvodů je droga relativně nestabilní a po určité době (podle způsobu skladování) ztrácí kvalitu. Čerstvá droga má ostrou aromatickou chmelovou vůni, droga, u níž došlo ke tvorbě oxidačních produktů pak výrazný sýrovitý zápach; tyto rozkladné produkty snižují

biologickou aktivitu. Podle dřívějších lékopisů mohla být droga používána maximálně 1 rok po její adjustaci, v současné době však Český lékopis tento požadavek neobsahuje.

Silice (0,5–1,5 %) sestává hlavně z jednoduchých oxidovaných alkanů, monoterpenů a seskviterpenů. Primárními těkavými složkami ve všech kultivarech chmele jsou monoterpen myrcen a seskviterpeny β-karyofylen a humulen (57–82 % silice), obr. 4. Pokud jde o tradiční ekonomickou hodnotu, silice a hořké kyseliny představují nejvýznamnější součásti chmele.

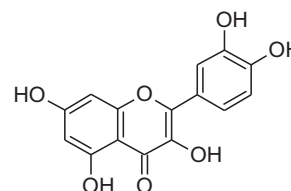


Obr. 4. Struktury složek silice: (zleva) myrcen, β-karyofylen a humulen

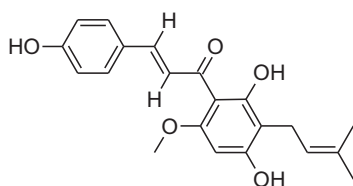
Jako složky se sedativní aktivitou jsou uváděny humulon a lupulon z hořkých kyselin, jejich degradační produkt 2-methyl-3-buten-2-ol a myrcen (7-methyl-3-methylen-1,6-oktadien). Oba poslední jsou známé hmyzí feromony<sup>13</sup>. Zmíněný alkohol je však přítomen pouze ve stopových množstvích v čerstvě sklizených chmelech, ale zvyšuje se po dvou letech až na 20 % z obsahu těkavých látek v důsledku degradace hořkých kyselin.

Třetí skupina sloučenin sestává z flavonoidů (0,5–1,5 %) včetně kvercetinů (obr. 5) a glykosidů kempferolu (kaempferol) a z asi 30 prenylovaných, oxidovaných a/nebo cyklizovaných chalkonů. Nejhojnějšími chalkony jsou xanthohumol (až 1 % ze suchých šištic a 80–90 % celkových flavonoidů, obr. 6) a desmethylxanthohumol. Tyto chalkony jsou snadno isomerizovány na odpovídající flavanony, resp. na isoxanthohumol a směs (cca 3:2) 6-prenylnaringeninu a 8-prenylnaringeninu (25–60 mg/kg), obr. 7.

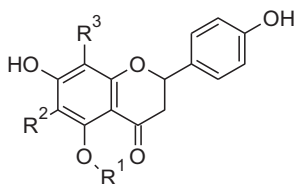
Látkou z chmelových šištic s estrogení aktivitou je racemický 8-prenylnaringenin, vytvořený spolu s méně aktivním 6-prenylnaringeninem. Isoxanthohumol je hlavní prenylovaný flavonoid v pivu, protože xanthohumol je v průběhu vaření při zvýšených teplotách do značné míry isomerizován. Těchto pět prenylovaných flavonoidů, tj. xanthohumol, desmethylxanthohumol, isoxanthohumol,



Obr. 5. Kvercetin



Obr. 6. Xanthohumol



isoxanthohumol	$R^1 = \text{CH}_3$ , $R^2 = \text{H}$ , $R^3 = \text{prenyl}$
6-prenylnaringenin	$R^1 = R^3 = \text{H}$ , $R^2 = \text{prenyl}$
8-prenylnaringenin	$R^1 = R^2 = \text{H}$ , $R^3 = \text{prenyl}$

Obr. 7. Flavonoidy

6-prenylnaringenin a 8-prenylnaringenin (obr. 6 a 7) představuje sadu zajímavých bioaktivních sloučenin, protože prokázaly schopnost inhibovat proliferaci několika nádorových buněčných linií *in vitro*. Mezi další složky chmele patří aminokyseliny a proteiny (15 %), polysacharidy (50–60 %), minerály, fenolové kyseliny, jako jsou chlorogenová a kávová, lipidy a kondenzované třísloviny (2–4 %)⁹.

Evropská encyklopedie léčivých drog uvádí⁹ u látek z chmele velmi mnoho různých aktivit, jako sedativní, estrogenní, antimikrobiální, antidiabetickou (a s tím spojenými pozitivními účinky na hypertriacylglycerolemii včetně sníženého rizika souvisejících onemocnění, jako je ateroskleróza), antiosteoporotickou, protizánětlivou, antiproliferační, antiangiogenní, protinádorovou.

Je záslužné, že přípravu, jak bychom řekli dnes „cereálně-chmelového smoothie“, které již samotný Odin vařil ve Walhalle, upravuje i první zákoník našeho světa, který vydal král Chamurapi. Jeho přípravu chápali vladaři jako mimořádně důležitou a mnohý zákoník a soupis práv ji reguluje. V českém prostředí se dokonce vždy tradovalo, že která vláda dovolí zdražení piva, do roka padne (to ale mohlo souviset s dobovými sny za časů budování lepšího příštího). Ovšem, pokud by to platilo, museli bychom asi mít v současnosti novou vládu několikrát za rok. Než vzdejme hold léčivé bylině, která dala vzniknout našemu „tekutému chlebu vezdejšímu“.

Přinášíme tento příspěvek jako učební text popisující různé zajímavé aspekty chemie přírodních látek<sup>14–16</sup> i pro-

to, že chceme takto reagovat na množství smyšlenek, poloprávd a nesmyslů, které jsou kolem přírodních sloučenin dnes šířeny. Je nabitelní, že zkoumání přírodních látek, jakožto látek z obnovitelných zdrojů, je jednou z cest, jak laciným a efektivním způsobem přispět ku všeobecnému prospěchu<sup>17,18</sup>. Pokud se tak činí s přírodními, která byla oblíbená bohy i králi a která je lidstvem používána po tisíce let, je jen dobře.

## LITERATURA

1. Neve R. A.: *Hops*. Springer Dordrecht 1991.
2. Thomé O. W.: *Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz*. Gera 1885.
3. Korpeläinen H., Pietiläinen M.: *Econ. Bot.* 75, 302 (2021).
4. Dioscorides P.: *De materia medica* (Διοσκοριδῆς Π.: Περὶ ὕλης ἰατρικῆς), Kilikie mezi roky 50 až 75 n.l.; anglický komentovaný překlad Osbaldeston T. A., Ibis Press, Johannesburg South Africa 2000; [https://ia802907.us.archive.org/16/items/de-materia-medica/scribd-download.com\\_dioscorides-de-materia-medica.pdf](https://ia802907.us.archive.org/16/items/de-materia-medica/scribd-download.com_dioscorides-de-materia-medica.pdf), staženo 5. 4. 2022.
5. Mathioli P. O. v knize: *Commentarrii in sex libros Pedacii Dioscoridis*. Praha 1562; český překlad Herbař neboli Bylinář, str. 411. Levné knihy, Praha 2003.
6. Vydržel A., *Codex Agrol*, Codex Agrol-Vydržel, Olomouc 1935.
7. [https://www.webhomeopath.com/homeopathy/homeopathic-remedies/homeopathy-remedy-Lupulus\\_humulus.html](https://www.webhomeopath.com/homeopathy/homeopathic-remedies/homeopathy-remedy-Lupulus_humulus.html), staženo 11. 7. 2022.
8. Krejča J., Kresánek J.: *Atlas léčivých rostlin a lesních plodov*. Osveta, n.p., Martin 1982.
9. EMEA: *Humulus (Lupuli flos) - Herbal medicines for human use - European Drugs Reference Encyclopedia Community Herbal Monograph on Humulus lupulus L., flos*, 2008; <https://theodora.com/drugs/eu/index.html>, staženo 29. 5. 2022.
10. Ruggeri R., Loreti P., Rossini F.: *Eur. J. Agron.* 93, 11 (2018).
11. Rossini F., Virga G., Loreti P., Provenzano M. E., Danieli P. P., Ruggeri R.: *Agronomy* 10, 1547 (2020).
12. Rybáček V.: *Chmelářství*. Agrosience, Chrástany 1980.
13. <https://www.pherobase.com/>, staženo 1. 6. 2022.
14. Bejček J., Spiwok W., Kmoníčková E., Ruml T., Rimpelová S.: *Chem. Listy* 115, 4 (2021).
15. Jurášek M., Opletal L., Kmoníčková E., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 363 (2021).
16. Jurášek M., Opletal L., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 458 (2021).
17. Kaczorova D., Beres T., Zeljkovic S. C., Bjelkova M., Kuchar M., Tarkowski A. P.: *Chem. Listy* 114, 277 (2020).
18. Rádl S.: *Chem. Listy* 115, 246 (2021).

**M. Jurášek<sup>a</sup>, A. Rybka<sup>b</sup>, L. Opletal<sup>c</sup>, and P. Drašar<sup>a</sup>** (<sup>a</sup> *Department of Chemistry of Natural Compounds, University of Chemistry and Technology, Prague,* <sup>b</sup> *Department of Agricultural Machines, Faculty of Engineering, Czech University of Life Sciences Prague,* <sup>c</sup> *Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University, Hradec Králové*): **About Hop Cones for a Golden Brew**

As a component of drinks, food, cosmetics, and spice, hops yields a plethora of biologically active compounds. This plant, which was valued by gods and kings through the history, may serve as a basis for pharmaceutical exploitation: not only as a healthy folk medicine but also in a search for the effective sedative, estrogenic, antimicrobial, antidiabetic, and cancerostatic compounds.

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

Keywords: hops, beer, biological activity, folk medicine

● Jurášek M., Rybka A., Opletal L., Drašar P.: Chem. Listy 116, 668–671 (2022).

● <https://doi.org/10.54779/chl20220668>

# MEMBRÁNY SE SMÍŠENOU MATRICÍ PRO ZÁCHYT OXIDU UHLIČITÉHO

KATEŘINA HAMALOVÁ a ZDEŇKA KOLSKÁ

Centrum nanomateriálů a biotechnologií, Přírodovědecká fakulta, Univerzita J. E. Purkyně v Ústí nad Labem, Pasteurova 15, 400 96 Ústí nad Labem, Česká republika  
katherine.pribylova@gmail.com

Došlo 10.6.22, přijato 16.8.22.

Klíčová slova: membrány se smíšenou matricí, iontové kapaliny, organokovové sítě, záchyt a separace oxidu uhličitého, polymery

• <https://doi.org/10.54779/chl20220672>

## Obsah

1. Úvod
2. Membránové separace plynů
3. Membrány se smíšenou matricí (MMM)
4. Polymery jako první složka MMM
5. Iontové kapaliny jako další složka MMM
6. MOF jako nová složka MMM
7. Závěr

## 1. Úvod

V posledních několika letech ve světě vzrůstají obavy z globálního oteplování, stoupá touha po čisté energii, častěji se používají méně toxická rozpouštědla, přistupuje se k redukci výdeje energie, ke snižování emisí a dalším krokům vedoucím ke zlepšení životního prostředí. Obecně lze říct, že se lidstvo mnohem více zajímá o životní prostředí a jeho budoucnost než před několika lety. Intenzivněji dnes vědci řeší i problematiku spojenou se zvyšující se koncentrací oxidu uhličitého v ovzduší a následného skleníkového efektu. Proto je v poslední době kladen větší důraz na záchyt CO<sub>2</sub>. Technologie, které se v současnosti používají, např. adsorpce při kolísavém tlaku (PSA), kryogenní separace a chemické čištění, se stále potýkají s velmi vysokými provozními náklady, s vysokou spotřebou energie a s negativním dopadem na životní prostředí. Naproti tomu separace plynů selektivním transportem přes polymerní membrány si postupně získává uznání a jeví se jako slibný kandidát na ekonomický a ekologicky šetrný záchyt a separaci CO<sub>2</sub>. Separace plynů membránami je dynamická a rychle rostoucí oblast výzkumu a zároveň velmi nadějným odvětvím membránové technologie. V procesu sepa-

race plynů na bázi membrán jsou složky oddělovány od jejich směsí na základě rozdílné propustnosti přes membrány<sup>1</sup>. Membránové separace nabízejí řadu výhod, včetně nízkých investičních a provozních nákladů, nižších energetických nároků a obecně snadného provozu<sup>2</sup>. Současné aplikace membránového dělení plynů zahrnují např. obohacování kyslíkem a dusíkem, regeneraci vodíku, separaci zemního plynu a odstraňování těkavých organických sloučenin z odpadních proudů. Během technologického vývoje membránové separace byly navrženy různé strategie pro řešení vztahu mezi propustností a selektivitou běžně dostupných polymerních membrán, přičemž se tzv. membrány se smíšenou matricí jeví jako velmi slibné<sup>3</sup>.

## 2. Membránové separace plynů

Membránová separace plynů je tlakově řízený proces s různými průmyslovými aplikacemi, které představují pouze drobný zlomek potencionálních aplikací v rafinériích a chemickém průmyslu. Od roku 1980, kdy byla uskutečněna sériová výroba komerční polymerní membrány, se tyto materiály staly konkurenceschopnou separační technologií. Oproti běžným separačním technikám (např. kryogenní destilace a adsorpční procesy) nevyžadují změnu fáze<sup>4</sup>. Dnes jsou již membránové technologie (MT) uznávány jako silné nástroje pro řešení některých důležitých globálních problémů a hojně využívány pro vývoj nových průmyslových procesů. Například při odsolování mořské vody jsou MT nebo jejich kombinace ve složitějších integrovaných systémech již úspěšným přístupem k řešení nelehké situace s potřebou sladké vody v mnoha rozvojových regionech světa. Použití membrán je až desetkrát účinnější než jiné možnosti odsolování vody<sup>5</sup>. Membrány je možné využít i pro separaci plynů. Mohou být aplikovány na řadu dílčích kroků během zpracování zemního plynu, dále se mohou využívat při odstraňování kyselých plynů, při separaci dusíku a helia a také pro získávání uhlovodíků (např. butanu)<sup>6</sup>. Současný výzkum se zaměřuje zejména na testování současných, komerčně dostupných membránových materiálů pro odstraňování CO<sub>2</sub> (např. acetát celulosy, polyimidy a perfluoropolymery) a jejich zavedení do MT. Ve všech těchto případech jsou polymerní membrány středem zájmu komercializace díky jejich snadné výrobě. Jiné materiály, např. anorganické membrány, vykazují ve výzkumných podmínkách vyšší výkon, ale jejich výroba je stále příliš nákladná na to, aby mohly polymerům konkurovat. Je však nutné říct, že pouze malý počet polymerů, z mnoha stovek současně dostupných ve výzkumných laboratořích, dosáhl svého komerčního potenciálu. Například v roce 2002 tvořilo 90 % celkového trhu s membránami pro separaci plynů pouze devět polymerních materiálů<sup>3</sup>. Polymerní membrány jsou obecně



neporézní a propustnost plynů je popsána difúzním mechanismem, založeným na rozpustnosti specifických plynů v membráně a jejich difúzi přes homogenní membránovou matici. Separace pak tedy nezávisí pouze na velikosti molekul, ale také na interakcích mezi plyny a polymerem. Polymerní membrány mohou mít různou strukturu a mechanické vlastnosti v závislosti na teplotě skelného přechodu,  $T_g$ , a lze je rozdělit na ty ve stavu kaučukovitým (viskoelastickým) a skelném (sklovitým). Selektivita kaučukovitých membrán je založena na rozpustnosti, zatímco selektivita skelných membrán na difúzi<sup>7,8</sup>.

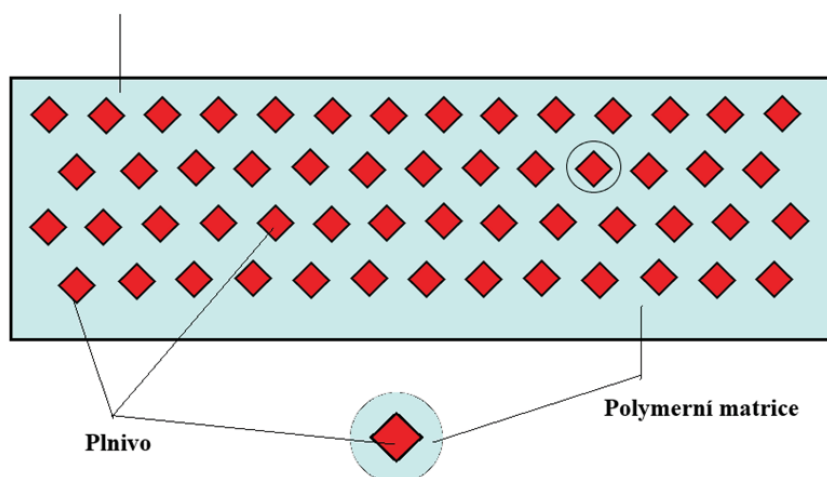
### 3. Membrány se smíšenou maticí (MMM)

Membrány se smíšenou maticí (MMM, z angl. mixed matrix membranes) jsou kompozitní membrány, připravené kombinací anorganického nebo anorganicko-organického hybridního materiálu ve formě mikro- nebo nanočástic, které jsou součástí polymerní matrice (obr. 1). Koncepce smíchání dvou materiálů (polymeru a plniva schopného polymer zesíťovat) se objevila již v mnoha odborných publikacích, např. cit.<sup>9,10</sup>. V 70. letech 20. století byl proveden výzkum zaměřený na výrobu MMM pro separaci plynů zanesením zeolitů do kaučukovitého polymeru polydimethylsiloxanu (PDMS)<sup>11</sup>, kdy byly připraveny různé MMM a studován vliv difúzní prodlevy na separaci  $\text{CO}_2/\text{CH}_4$ . Výsledky ukázaly zvýšení difúzní prodlevy v závislosti na rychlosti separace  $\text{CO}_2/\text{CH}_4$ , ale rychlost propustnosti v ustáleném stavu se změnila minimálně. Je velmi důležité, aby oba (či více) materiály, které se mají smíchat a tvořit MMM, byly vhodně zvoleny. Dominantními mechanismy, které probíhají při separaci plynů membránami se smíšenou maticí a na které je třeba brát ohled, jsou difúzní tok a Knudsenova difúze<sup>12</sup>. Pokud při výrobě MMM použijeme materiály, které mají různé transportní vlastnosti, dosáhneme tak velmi slibných vlastností vý-

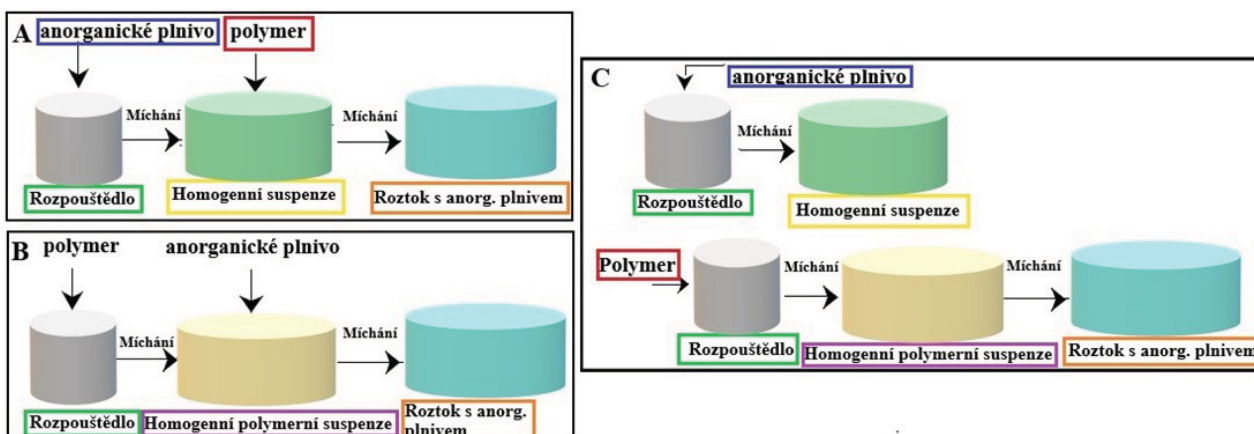
sledné membrány. Ty pak mohou poskytovat separační vlastnosti nad tzv. Robesonův limit<sup>13</sup> (hranice mezi propustností a selektivitou, přičemž propustnost je snížena na úkor selektivitu a naopak), který je typický pro čistě polymerní membrány. Jako plniva do MMM se používají různé typy anorganických, propustných i nepropustných materiálů. V posledních letech jsou využívány i nanostrukturované, vysoce porézní materiály, jako např. zeolity nebo MOF (z angl. metal organic frameworks). Tento typ membrán se vyrábí homogenním dispergováním částic plniva do polymerní matrice. Vlastnosti jak polymeru, tak i plniva pak ovlivňují výsledný separační výkon<sup>14</sup>. Prvním krokem výroby MMM je příprava homogenní suspenze polymeru a částic (plniva). K tomuto účelu lze použít následující postupy (viz obr. 2): (a) částice se rozptýlí v rozpouštědle, míchají se po předem stanovenou dobu a poté se přidá polymer<sup>15</sup> (obr. 2A); (b) polymer se rozpustí v rozpouštědle a míchá se, poté se do roztoku polymeru přidá předem stanovené množství anorganických částic<sup>16</sup> (obr. 2B); (c) částice se rozptýlí do rozpouštědla a míchají se po předem stanovenou dobu, polymer se rozpouští v rozpouštědle samostatně. Suspenze částic se poté přidá do roztoku polymeru<sup>17</sup> (obr. 2C). Z těchto metod se pro lepší distribuci anorganických částic používá první a třetí postup, ve zředěné suspenzi je částicím zabráněno v aglomeraci vysokou smykovou rychlostí během míchání. Druhá metoda se běžně používá pro rovnoměrnou distribuci nanočástic v polymerní matici<sup>16</sup>.

V posledních letech již bylo popsáno několik MMM pro separaci např.  $\text{CO}_2$ , ale pouze některé z nich vykazovaly současně lepší propustnost i selektivitu (separační faktor) v porovnání s čistými polymerními membránami<sup>18</sup>. Např. příměs mezopórního oxidu křemičitého se špatnou adsorpční selektivitou pro  $\text{CO}_2$  obvykle vede k očekávanému nárůstu propustnosti pro  $\text{CO}_2$ , přičemž se selektivita pro  $\text{CO}_2$  zachová nebo dokonce sníží v porovnání s původní polymerní membránou. Dalším problémem mů-

Membrána se smíšenou maticí



Obr. 1. Schématické znázornění membrány se smíšenou maticí. Přepřacováno dle cit.<sup>3</sup>

Obr. 2. Různé metody příprav membrán se smíšenou maticí. Přepřacováno dle cit.<sup>10</sup>

že být nepravidelná morfologická struktura MMM, která brání zvýšení selektivity a propustnosti. Nepravidelné struktury jsou způsobeny např. agregací částic plniva, mezerami na rozhraní mezi plnivem a polymerní fází, ztuhnutím polymerního řetězce kolem částic plniva a zhoršením transportních vlastností na povrchu částic plniva. Těmito ději mohou být způsobeny makroskopické defekty uvnitř membrány a ovlivněny tak její vlastnosti, přičemž může dojít ke snížení propustnosti či selektivity dané membrány<sup>19</sup>. Výše zmíněná negativa se týkají především anorganických plniv, jako jsou např. zeolity, protože mají obvykle špatnou kompatibilitu s organickými polymery<sup>20</sup>. V některých případech může ztuhnutí polymeru nebo částečné ucpání pórů v polymerní matici vést k požadovanému zvýšení selektivity pro plyny<sup>21</sup>. K vyřešení problémů s morfologií byly postupně navrženy různé strategie, např. zavedení třetí složky do binárních směsí MMM. Ta může být umístěna na rozhraní plniva a polymeru, může být také zapouzdřena v kanálcích pórů plniva a v poslední řadě může být distribuována v polymerní matici spolu s částicemi zvoleného plniva<sup>3</sup>.

Na základě různých strategií při jejich výrobě můžeme MMM dělit na tři základní typy<sup>22</sup>: MMM na bázi (a) pevná látka/polymer, (b) kapalina/polymer a (c) pevná látka/kapalina-polymer, kde dispergovaná plniva jsou buď pevná, kapalná nebo pevná a kapalná. U MMM na bázi pevná látka/polymer se pevná plniva, která se zabudují do polymerní matrice, skládají z běžných plniv (zeolity, uhlíková molekulová síta, oxidy kovů)<sup>21,23</sup> nebo alternativních plniv (uhlíkové nanotrubičky, MOF, grafeny, sférické materiály, vrstevnaté a delaminované materiály)<sup>24,25</sup>. Všechny výše uvedené studie uvádějí průlom v přípravě MMM v důsledku kombinace anorganických plniv a polymerů.

V MMM na bázi kapalina/polymer jsou plniva v kapalném stavu, např. polyethylenglykol (PEG) a/nebo některé aminy<sup>22</sup>. Je třeba poznamenat, že kritickým problémem u těchto typů membrán je nedostatečně dlouhá stabilita v důsledku vymývání, degradace a odpařování rozpouštědla. Z toho důvodu byl zaveden nový typ MMM na

bázi pevná látka/kapalina-polymer, který zde stabilizuje kapalinu v polymerní fázi<sup>22</sup>. Pevná plniva jsou impregnována kapalným polymerem, jako jsou právě již výše zmíněné aminy a PEG, a to předtím, než jsou zabudována do porézních polymerních matic<sup>14</sup>.

#### 4. Polymery jako první složka MMM

Jak již bylo zmíněno výše, při výrobě MMM má správný výběr materiálu pro matici i anorganickou fázi zásadní důležitost. Podstatné je vybrat polymer, který si během přípravy MMM zachová své původní vlastnosti a interaguje dobře se zvoleným plnivem. Pro přípravu MMM pro separaci plynů se používají dva typy polymerů: kaučukovité, které obvykle obsahují elastickou strukturu polymerního řetězce, a skelné, které mají tuhé řetězce s omezeným pohybem strukturálních segmentů<sup>26</sup>. Přestože již byly úspěšně připraveny MMM s elastickými polymery, např. polyvinylacetátem (PVA)<sup>27</sup>, nejsou tyto polymery běžně využívány pro komerční aplikace separace plynů, a to zejména proto, že tento typ polymeru obvykle postrádá mechanickou stabilitu při vysokém tlaku a dokonce i při nevyšších teplotách. Kromě toho PVA a jemu podobné polymerní materiály postrádají dostatečně atraktivní inherentní transportní vlastnosti<sup>13</sup>, které by se přibližovaly k tzv. „horní hranici“ výkonnosti, kterou je možno dosáhnout u neelastických polymerů s vysokou teplotou  $T_g$ . Hodnota  $T_g$  a polarita jsou hlavními faktory, podle kterých lze polymery pro tento účel volit. Jak již bylo popsáno, vlastnosti polymeru i anorganické fáze mohou ovlivnit morfologii MMM a jejich separační výkon<sup>28</sup>.

Adheze mezi polymerní fází a vnějším povrchem částic je při použití skelných polymerů při přípravě MMM velkým problémem. V tomto případě slabá organicko-anorganická interakce způsobuje vznik dutin na rozhraní polymer-plnivo, které fungují jako alternativní průchody pro molekuly plynu a zhoršují separační vlastnosti membrány<sup>29</sup>.

Nejčastěji používanými kaučukovitými polymery (propustnost  $> 100 \text{ mol/m}\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ ) jsou PDMS (polydimethylsiloxan)<sup>30</sup>, PMPS (polymethylfenylsiloxan)<sup>31</sup>, 6FDA-DAM [2,2-bis(3,4-karboxyfenyl)hexafluoropropan-dianhydrid a diaminomesitylen]<sup>32</sup>. Kaučukovité polymery vykazují velmi vysoký tok a nízkou selektivitu. Nejčastěji používané skelné polymery (propustnost  $< 50 \text{ mol/m}\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ ) jsou PSF (polysulfon)<sup>33</sup>, acetát celulosy (CA)<sup>34</sup>, polyimid (PI)<sup>35</sup>, polyamid (PA)<sup>35</sup>, polyethersulfon (PES)<sup>35</sup>, polypropylen (PP)<sup>35</sup>, polyvinylidenfluorid (PVDF)<sup>35</sup>, PPEES [poly(1,4-fenylen ether-ether-sulfon)]<sup>36</sup>, PVAc (polyvinylacetát)<sup>37</sup>, Ultem® (polyetherimid)<sup>9</sup>, Matrimid® (maleimid)<sup>38</sup> a PBI (polybenzimidazol)<sup>39</sup>. MMM připravené z těchto skelných polymerů vykazují špatnou adhezi mezi anorganickými plnivými a polymery.

Dalším typem polymerů používaných pro přípravu membrán s definovanou nanostrukturou pro separaci plynů jsou blokové kopolymery, které obsahují jak tuhé, tak elastické polymerní segmenty, čímž potenciálně zlepšují adhezi. Nejčastěji používané jsou poly(styren-butadien-styren) (SBS), poly(etheruretan-urea), poly(etheruretan) a poly(ether-blok-amid) (Pebax). Správný výběr polymerů také určuje mezifázovou morfologii MMM. Použití externích síťovacích činidel je běžnou strategií pro řešení problému špatné adheze, avšak zavedení dalších činidel do systému obvykle má negativní efekt na transportní vlastnosti. Vzhledem k těmto obavám by výběr polymerních materiálů s vhodnými chemickými vazbami, které jsou inherentní součástí polymerního řetězce, mohl potenciálně zlepšit adhezi mezi polymery a částicemi a zároveň zamezit negativnímu efektu na transportní vlastnosti. Aplikaci této strategie studovali Mahajan a spol.<sup>40</sup> V jejich studii byl použit fluorovaný polyimid tvořený 6FDA-6FPDA/4MPD/DABA s karboxylovými skupinami na polymerním řetězci. Ty mohou poskytovat vodíkové interakce nebo dokonce kovalentně vazebné interakce s povrchem částic. S pomocí těchto chemických ligandů se polymer nemůže zcela oddělit od povrchu částic, což zajistí lepší adhezi s výhodnější mezifázovou morfologií. Tato práce naznačuje novou cestu k řešení problému adheze pomocí polymerů s integrovanými chemickými síťovacími činidly, které reagují s funkčními skupinami přítomnými na povrchu částic.

## 5. Iontové kapaliny jako další složka MMM

Iontové kapaliny (z angl. ionic liquids, IL), označované také jako „tekuté soli“, mají teplotu tání pod určitou stanovenou hodnotou, např. pod  $100 \text{ }^\circ\text{C}$ . IL jsou látky složené z organických a anorganických iontů, jednoduchých i složitých, chirálních i achirálních, a mohou obsahovat více než jeden kationt nebo aniont. Mohou obsahovat také plně nebo částečně ionizované kyseliny či zásady, nabitě ligandy, organokovové koordinační polymery, organické ionty a mnohé další látky<sup>41</sup>. Mezi organické sloučeniny obsažené v IL patří zejména azolové (např. imidazolové, triazolové), fosfoniové, pyridiniové, pyrrolidiniové a alkylamoniiové kationty. Další složku tvoří buď anorga-

nické anionty (např. halogenidy, dusičnany, chlornany, sírany, dusitany, hexafluorofosforečnany, tetrafluoroboritan, azidy) nebo některé ze stále rostoucího počtu organických aniontů (např. trifluormethansulfonát, benzoát, sulfacetamid, alkylsulfáty, alkylkarbonáty, organické karboxyláty)<sup>41</sup>. Takovou vnitřní složitost IL a rozmanitost iontů je velmi obtížné charakterizovat a přiřadit tak všem IL jedinou společnou charakteristiku (výjimku tvoří pouze teplota tání,  $T_i$ )<sup>41</sup>. Neexistuje žádný model, který by byl dostatečně univerzální pro popis celé rodiny IL. Vyskytují se v rozsahu od netěkavých, nehořlavých a na vzduchu stabilních až po ty, které jsou zřetelně těkavé, hořlavé a nestabilní. Tyto výrazné rozdíly ve vlastnostech mohou být způsobeny špatně zvolenou kombinací kationtu a aniontu v dané IL. Bez ohledu na to zůstávají IL žádanější než konvenční těkavá rozpouštědla a katalyzátory v mnoha fyzikálních a chemických procesech a často jsou tak označovány jako zelená rozpouštědla<sup>41</sup>.

IL se dělí na několik typů: IL stabilní při pokojové teplotě (z angl. room-temperature ionic liquids, RTIL); dále tzv. úkolově specifické IL (z angl. task-specific ionic liquids, TSIL); polyiontové kapaliny (z angl. polyionic liquid, PIL), polymerizované iontové kapaliny (z angl. polymerized room temperature ionic liquids, poly(RTIL)); a konečně to mohou být iontové kapaliny zakotvené na membráně (z angl. supported ionic liquids, SILM). Posledně zmíněné zahrnují např. kompozity s IL zakotvené na MOF (z angl. metal-organic frameworks)<sup>41</sup>. Pro jejich potenciální budoucí aplikace v chemických procesech je velice důležitý popis interakcí mezi strukturami dílčích částí, jako jsou samotné IL, v nich rozpouštěné látky, různé nosiče a složky ve směsích<sup>42</sup>.

Za vůbec první IL byl v roce 1914 označen ethylamonium nitrát. Svůj věhlas si IL získaly až v posledních dvou desetiletích a staly se významnou součástí vědeckého výzkumu. Počet vědeckých prací s tematikou IL se exponenciálně zvýšil z několika málo prací v roce 1996 na cca 5000 vědeckých článků v roce 2016, čímž překonal roční tempo růstu jiných vědeckých oblastí<sup>41</sup>. Kolegové z ÚMCH AV ČR se např. zabývali potenciálními aplikacemi membrán a IL pro průmyslové využití<sup>42</sup>. IL se užívají napříč téměř všemi přírodovědnými obory, objevují se multidisciplinární studie z oblasti obecné chemie, materiálové chemie, chemického inženýrství a v neposlední řadě také v oblasti životního prostředí<sup>43</sup>.

IL lze syntetizovat z různých kationtových či aniontových prekurzorů, které poskytují rozmanité interakce, struktury a různorodé vlastnosti. IL se primárně syntetizují tzv. kvaternizační reakcí fosfinu, aminu, pyridinu nebo azolu za použití např. alkylhalogenidů (nejčastěji jodidů), síranů nebo trifluormethansulfonátů, čímž pak vznikají odpovídající alkylamoniiové halogenidy, sírany nebo triflátové IL (cit.<sup>43</sup>). Za zmínku stojí, že syntéza IL není omezena pouze na kombinaci jednoho páru aniont/kationt. IL s jedinečnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi lze syntetizovat také kombinací tří a více iontů v jejich míselném rozsahu a vytvořit tak tzv. dvojně soli iontových kapalin (DSIL, z angl. double salt ionic liquids)<sup>44</sup>.

V poslední době se IL hojně využívají v membránách pro separaci plynů, přičemž zde nehrají hlavní roli při transportu plynu, nýbrž jsou využívány jako kompatibilizátor (látka, která zmenšuje mezifázové napětí a zlepšuje tak vzájemnou adhezi jednotlivých složek ve směsi) v MMM (cit.<sup>45</sup>). V tomto ohledu vědci zkoumali vliv RTIL na separační výkon MMM na bázi zeolitů, jako je např. SAPO-34 v polyethersulfonu nebo poly(RTIL) (syntetizovaný přímou radikálovou polymerací monomerů IL), na SSZ-13 v poly(RTIL)<sup>46</sup>, na ZSM-5 v polyimidu<sup>47</sup> nebo na zeolitu-4A v polysulfonu<sup>48</sup>. V posledním případě byl na zeolit kovalentně navázán 3-(trimethoxysilyl)-propan-1-aminoacetát ([APTMS][Ac]), který zvýšil selektivitu CO<sub>2</sub>/CH<sub>4</sub> a CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> přibližně o 45 %, s okrajovým vlivem na propustnost pro CO<sub>2</sub>. V polymerizovaných RTIL zeolit SAPO-34 synergicky zlepšuje propustnost pro CO<sub>2</sub> i selektivitu CO<sub>2</sub>/CH<sub>4</sub> a CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>. U MMM na bázi MOF závisí účinek IL na povaze polymerní matrice a díky tomu se může lišit jejich struktura, a to od mezifázového zpevnění u MMM s kombinací ZIF-8/Pebax<sup>49</sup> až po homogenní nebo naopak zcela heterogenní rozložení IL u MMM s kombinací ZIF-8/poly(RTIL)<sup>50</sup>. Velmi zajímavá je např. studie, která ukazuje, že silný synergický efekt IL a plniva, tj. oxidu grafenu (grafen oxid, GO) v MMM na bázi Pebax® 1657 vede až k 90% zvýšení selektivity CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> a současněmu zvýšení propustnosti pro CO<sub>2</sub> až o 50 %, pokud je GO na povrchu roubován iontovou kapalinou<sup>51</sup>. Dalším příkladem vhodné aplikace IL bylo použití 1-ethyl-3-methylimidazolium-acetátu v membránách z chitosanu s mikroporézním titanosilikátem ETS-10, kde měla zmíněná IL duplicitní funkci: dodávala polymerní matici pružnost a zároveň redukovala defekty v okolí nanočástic pro zvýšení kompatibility<sup>52</sup>. To vedlo v této membráně k synergickému zlepšení propustnosti pro CO<sub>2</sub> a také selektivity CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>. Téměř ve všech případech, které byly popsány v tomto odstavci, je nejdůležitější úlohou IL snížit neselektivní defekty na rozhraní polymer/plnivo<sup>53</sup>.

Přirozená laditelnost struktury IL a vlastností dílčích polymerů nabízí nové možnosti pro přípravu MMM pro účinnější separaci CO<sub>2</sub>. Důležitým krokem při přípravě MMM s obsahem IL pro zlepšení separace CO<sub>2</sub> je zajištění mechanické stability zvolené polymerní membrány<sup>54</sup>. Membrány na bázi IL lze navíc považovat za komplexní systémy obsahující IL, polymery nebo i anorganické částice, proto je mechanismus separace CO<sub>2</sub> velmi složitý, zahrnuje mnoho faktorů a je dosud nejasný<sup>55</sup>.

Ve výrobních procesech MMM může zavedení IL (a) optimalizovat mezifázovou interakci a strukturu mezi částicemi plniva a polymerní maticí; (b) regulovat strukturu pórů plniva a (c) zvýšit afinitu membrán pro sorpci CO<sub>2</sub>, čímž se IL stávají jedním z druhů univerzálních a účinných přísad pro ternární MMM. IL mohou být do MMM zavedeny uzavřením v pórech plniv před samotnou výrobou membrán, což jim propůjčuje zvláštní funkci při úpravě struktury pórů a chemických vlastností plniv. Tímto způsobem výroby se zabývali např. Ban a spol.<sup>56</sup>, kteří zapouzdřili IL na bázi imidazolu [bmim][Tf<sub>2</sub>N] (viz seznam zkratk) do struktury ZIF-8 pomocí iontermické syntézy *in situ* předtím, než byl kompozit použit jako plni-

vo v MMM. Bylo zjištěno, že IL obsazovala dutiny v mřížkách, což vedlo ke snížení velikosti mřížky ZIF-8 (z 1,12 na 0,9 nm). Obdobný efekt měla i další, již dříve zmíněná příprava kompozitu MMM a IL/ZIF-8 namáčením ZIF-8 v roztoku [bmim][Tf<sub>2</sub>N], kdy se opět zmenšila mřížka ZIF-8 díky vyplnění dutin iontovou kapalinou<sup>49</sup>. Navíc se zjistilo, že integrované molekuly IL mohou být během odstraňování rozpouštědla „přetaženy“ na vnější povrch nanočástic ZIF-8. Další metodou včlenění IL do MMM byla modifikace povrchu plniva vhodnou IL. Například Lin a spol.<sup>57</sup> dopovali povrch částic HKUST-1 iontovou kapalinou [emim][Tf<sub>2</sub>N]. Na vnějším povrchu částic plniva se vytvořila vrstva IL, která zároveň působila jako mezifázové pojivo mezi HKUST-1 a 6FDA-durenovým polymerem zvoleným jako matrice. Tvorbu neselektivních mezifázových dutin se podařilo omezit na minimum, což vedlo ke zvýšení selektivity CO<sub>2</sub> ve srovnání s MMM, ve které byl použit nedopovaný HKUST-1 jako plnivo. V jiné práci Ahmad a spol.<sup>58</sup> modifikovali zeolit SAPO-34 pomocí iontové kapaliny [emim][Tf<sub>2</sub>N] jednoduchou imerzní metodou. Záporně nabitý povrch zeolitu může vytvářet elektrostatické interakce s kationtem iontové kapaliny, čímž dochází k adsorpci molekul IL na povrch SAPO-34. Adsorbované molekuly IL mohou eliminovat mezifázové dutiny díky lepší mezifázové adhezi mezi anorganickým SAPO-34 a organickou maticí PSF (polysulfon). V tomto případě se také zvýšila rozpustnost CO<sub>2</sub>, což vedlo k současnému zlepšení jeho propustnosti a selektivity. Poslední metodou modifikace výrobního procesu MMM je dopování polymerní matrice iontovou kapalinou před samotnou výrobou MMM. Takto „ošetřené“ polymerní matrice pak dosahují vyšší kompatibility na rozhraní plniva a polymeru. Např. Jomekian a spol.<sup>59</sup> dopovali polymer Pebax 1657 pomocí [DnBM][Cl]. Tato konkrétní modifikace zlepšila interakce polymeru Pebax 1657 s plnivem ZIF-8, což vedlo k vyšším selektivitám CO<sub>2</sub>/CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> a CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>, než tomu bylo u jejich nedomodifikovaných vzorků.

## 6. MOF jako nová složka MMM

V posledním desetiletí byla věnována značná pozornost nové třídě porézních pevných materiálů, tzv. organo-kovovým sítím (z angl. metal organic frameworks, MOF), které spojují výhody organických i anorganických porézních materiálů. MOF se skládají ze stavebních bloků na bázi kovů spojených organickými můstkovými ligandy (především donory elektronů). Velký výběr těchto organických síťovacích činidel, jako jsou např. karboxyláty, fosfonáty, sulfonáty, kyanidy, pyridin, imidazoly, umožňuje vznik různých typů funkcionalizace a roubování, přičemž uhlíková kostra může být také sama funkcionalizována halogenovými nebo aminovými skupinami<sup>60</sup>. Obvykle se syntetizují pomocí reakcí mezi ligandy a solemi kovů v roztocích (tj. solvotermální nebo hydrotermální syntézou). Topologie syntetizovaných MOF závisí na geometrii ligandů a jejich stabilita je dána typem kombinace kovu a ligandů. Mají geometricky a krystalograficky dobře

uspořádané sítě díky pevnosti koordinačních vazeb mezi klastry kovů a organickými ligandy<sup>61</sup>. MOF se těší značnému zájmu díky svým zajímavým strukturním a fyzikálním vlastnostem, jako je velký objem pórů, nízká hustota, velký povrch a přijatelná tepelná a mechanická stabilita. Byly studovány pro širokou škálu aplikací, včetně skladování<sup>63</sup> či separace<sup>64</sup> plynů, katalýzy<sup>64</sup>, přípravy sensorů<sup>65</sup> či jako nosiče léčiv<sup>66</sup>. Strukturní laditelnost a funkčnost činí z MOF vynikající alternativu v porovnání s tradičními porézními materiály, jako jsou zeolity. Použití MOF jako plniv v oblasti MMM je však stále v počátcích. Doposud bylo pro výrobu MMM použito nejvýše deset typů MOF. První přehledy o syntéze, charakterizaci a průmyslovém využití těchto nových membrán na bázi MOF byly publikovány v polovině roku 2011 (cit.<sup>62</sup>) a následně v roce 2013 (cit.<sup>67</sup>). MMM s obsahem MOF, jako například CuTPA/Poly(vinylacetát)<sup>37</sup>, Cu-4,4'-bipyridin-hexafluorosilikát (Cu-BPY-HFS)/polyimid<sup>68</sup>, MOF-5/polyimid<sup>69</sup>, Cu<sub>3</sub>(BTC)<sub>2</sub>/polyimid<sup>30</sup>, ZIF-8/1,4-fenylene ether-ether-sulfon<sup>70</sup>, ZIF-8/polyimid<sup>71</sup> a ZIF-90/polyimid<sup>43</sup> byly již úspěšně připraveny. Tyto membrány vykazují dobré separační vlastnosti pro směsi CO<sub>2</sub>/CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> a CH<sub>4</sub>/N<sub>2</sub>. U některých studovaných směsí plynů jsou tyto MMM schopny dosáhnout synergického zlepšení, pokud jde o selektivní transport plynů v porovnání buď s čistým polymerem nebo s MMM pouze s jedním typem plniva<sup>72</sup>. Hlavními nevýhodami MOF při jejich použití jako disperzních plniv jsou často jejich nižší tepelná a chemická stabilita a především vyšší výrobní náklady ve srovnání s tradičními plnivy, jako jsou např. zeolity<sup>61</sup>. Při výrobě MMM s přídavkem MOF se krystaly MOF smíchávají s polymery a vytvoří dané membrány. Mezi krystaly MOF a polymerní maticí se však mohou vyskytnout prázdné prostory, molekuly plynů mohou částice plniva obcházet, což vede ke ztrátě selektivity<sup>73</sup>. Navíc jsou směsné krystaly obvykle příliš malé na to, aby poskytovaly nepřerušovaný kanál pro průchod plynu. Separační výkon membrán, jak již bylo zmíněno, je řízen roztokově-difuzním modelem, který je nevhodný pro separaci některých směsí plynů, jako jsou například směsi H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>. Vzhledem k tomu, že většina polymerních membrán vykazuje nežádoucí protichůdné vlastnosti pro selektivní difuzivitu vodíku a selektivní rozpustnost pro oxid uhličitý, je účinná separace směsí H<sub>2</sub> a CO<sub>2</sub> stále problémem<sup>74</sup>. Existuje již několik publikací<sup>62,75–80</sup>, které studují přehledně účinnost MOF při zachytu CO<sub>2</sub>, poskytují informace v oblasti skladování a separace plynu pomocí membrán s obsahem MOF<sup>79</sup>, či selektivní zachyt CO<sub>2</sub> ze spalín po spalování a skladování CH<sub>4</sub> (cit.<sup>80</sup>).

## 7. Závěr

Od začátku výroby prvních membrán bylo vynaloženo mnoho úsilí na zlepšení jejich vlastností, ať už tepelných, mechanických, nebo zvýšení odolnosti proti znečištění. Membrány se smíšenou maticí, MMM, mají velice slibnou budoucnost v oblasti zachytu či separace plynů díky svým vynikajícím fyzikálním a chemickým vlastnostem. Stále se však potýkají s některými problémy týkající-

mi se především mezifázových defektů nebo adheze mezi organickou a anorganickou fází, což je podnětem k mnoha modifikacím, které je třeba provést k překonání zmíněných problémů. Již byly úspěšně navrženy povrchové modifikace anorganické fáze a změnil se také způsob přípravy MMM. MMM na bázi MOF vykazují slibné výsledky a mají potenciál překonat tradiční překážky dané nutným kompromisem mezi propustností a selektivitou. Jak ukazují uvedené výzkumy, ve vývoji MMM došlo k významnému zlepšení vlastností, ale stále je třeba studovat a vyvíjet nové technologie pro zvýšení účinnosti separace či zachytu plynů, zejména CO<sub>2</sub>. Jednou z možností dalšího vývoje je výzkum porézních nanomateriálů pro anorganická plniva. Adheze a rovnoměrné rozložení částic v MMM není uspokojivé kvůli mikrorozměrům anorganických plniv. Tyto materiály jsou však již postupně nahrazovány nanočásticemi, což přináší nové možnosti pro zlepšení požadovaných vlastností MMM. Další možností je studium nových kombinací polymerů, jako např. skelné/skelné nebo kaučukovité/skelné. Tímto přístupem by bylo možné zlepšit účinnost MMM, protože skelné polymery vykazují vysokou selektivitu a kaučukovité polymery naopak vysokou propustnost. V dnešní době také vzrostl zájem o nová rozpouštědla, která jsou schopna rozpouštět polymer a zároveň sorbovat CO<sub>2</sub>, a proto je nutné najít vhodné funkční skupiny těchto rozpouštědel (např. iontových kapalin nebo aminů) pro rovnoměrné rozložení částic v polymerní maticí. Pozoruhodné vlastnosti iontových kapalin, IL, kterými disponují oproti běžným těkavým rozpouštědlům, činí z IL vhodná rozpouštědla pro zachyt a fixaci CO<sub>2</sub>. I přes to, že se IL dnes intenzivně studují a jejich vývoj jde neustále dopředu, stále se výzkumníci potýkají s problémy, jako je například nedostatek levných a různorodých IL, které by mohly být komerčně využívány v separačních procesech. Díky tomu se IL zatím využívají pouze v laboratorním měřítku. Je také velmi důležité zabývat se vlivem IL na životní prostředí, jejich toxicitou, dlouhodobou stabilitou, a především jejich degradací. Současnost ukazuje, že novými, velmi atraktivními plnivými se stávají MOF, které nabízejí jedinečné vlastnosti výsledných MMM. Obecně lze říci, že MOF jsou vhodnými plnivými do MMM, nicméně stále existuje velký prostor pro výzkum, zejména v oblasti funkcionalizace a hybridizace těchto struktur tak, aby dosahovaly cílů vysoké propustnosti a selektivity, dobré mechanické, chemické a tepelné stability a nízkých výrobních nákladů. Díky těmto vlastnostem mohou být MMM na bázi MOF tou správnou cestou pro využití v průmyslových separačních procesech.

*Práce byla finančně podpořena projektem Grantové agentury České republiky, GAČR, č. 20-01639S.*

## Seznam zkratk

MT	membránové technologie
MMM	(mixed matrix membranes), membrány se smíšenou maticí
PDMS	polydimethylsiloxan
MOF	(metal organic frameworks), organokovo-

	vé rámce
PEG	polyethylenglykol
PVA	polyvinylacetát
PMPS	polymethylfenylsiloxan
6FDA-DAM	2,2-bis(3,4-karboxyfenyl) hexafluorpropan dianhydrid a diaminmesitylen
PSF	polysulfon
CA	acetát celulosy
PI	polyimid
PA	polyamid
PES	polyethersulfon
PP	polypropylen
PVDF	polyvinylidenfluorid
PPEES	poly(1,4-fenylen ether-ether-sulfon)
Ultem®	polyetherimid
Matrimid®	maleimid
PBI	polybenzimidazol
SBS	poly(styren- <i>co</i> -butadien- <i>co</i> -styren)
PEBAX	poly(ether- <i>blok</i> -amid)
IL	(ionic liquid), iontová kapalina
RTIL	(room-temperature ionic liquids), iontové kapaliny stabilní při pokojové teplotě
TSIL	(task-specific ionic liquids), úkolově specifické iontové kapaliny
PIL	(polyionic liquid), polyiontové kapaliny
SILM	(supported ionic liquids), iontové kapaliny zakotvené na membráně
DSIL	(double salt ionic liquids), dvojně soli iontových kapalin
DNA	deoxyribonukleová kyselina
[bmim][Tf <sub>2</sub> N]	1-butyl-3-methylimidazolium bis(trifluoromethylsulfonyl)imid
[emim][Tf <sub>2</sub> N]	1-ethyl-3-methylimidazolium bis(trifluoromethylsulfonyl)imid
[DnBM][Cl]	3-di- <i>n</i> -butyl-2-methylimidazolium chlorid

## LITERATURA

- Berry R. I.: Chem. Eng. J. 88, 63 (1981).
- Strathman H.: J. Membr. Sci. 9, 121 (1981).
- Guo X., Qiao Z., Liu D., Zhong C.: J. Mater. Chem. A 7, 24738 (2019).
- Brunetti A., Scura F., Barbieri G., Drioli E.: J. Membr. Sci. 359, 115 (2010).
- Klepič M., Jansen J. C., Fuoco A., Esposito E., Izák P., Petrusová Z., Vankelecom I. F. J., Randová A., Fíla V., Lanč M., Friess K.: Sep. Purif. Technol. 270, 118812 (2021).
- Scholes C. A., Stevens G. W., Kentisch S. E.: Fuel 96, 15 (2012).
- Válek R., Malý D., Peter J., Ullsperger J.: Chem. Listy 112, 237 (2018).
- Štanovský P., Benkocká M., Kolská Z., Šimčík M., Slepíčka P., Švorčík V., Friess K., Ruzicka M. C., Izák P.: J. Membr. Sci. 641, 119890 (2022).
- Dai Y., Johnson J. R., Karvan O., Sholl D. S., Koros W. J.: J. Membr. Sci. 401–402, 76 (2012).
- Aroon M. A., Ismail A. F., Matsuura T., Montazer-Rahmati M. M.: Sep. Purif. Technol. 75, 229 (2010).
- Paul D. R., Kemp D. R.: J. Polym. Sci., Polym. Symp. 41, 79 (1973).
- Rezakazemi M., Amooghini A. E., Montazer-Rahmati M. M., Ismail A. F., Matsuura T.: Prog. Polym. Sci. 39, 817 (2014).
- Robeson L. M.: J. Membr. Sci. 320, 390 (2008).
- Dechnik, J., Gascon, J., Doonan, C. J., Janiak, C., Sumbly, C. J.: Angew. Chem., Int. Ed. 56(32), 9292 (2017).
- Jiang L. Y., Chung T. S., Cao C., Huang Z., Kulprathipanja S.: J. Membr. Sci. 252, 89 (2005).
- Kim S., Chen L., Johnson, J. K., Marand E.: J. Membr. Sci. 294, 147 (2007).
- Rafizah W. A. W., Ismail A. F.: J. Membr. Sci. 307, 53 (2008).
- Shen Y., Lua A. C.: Chem. Eng. J. 188, 199 (2012).
- Lin R., Hernandez B. V., Ge L., Zhu Z.: J. Mater. Chem. A 6, 293 (2018).
- Bastani D., Esmaeili N., Asadollahi M.: J. Ind. Eng. Chem. 19, 375 (2013).
- Li Y., Chung T. S., Cao C., Kulprathipanja S.: J. Membr. Sci. 260, 45 (2005).
- Liu C., Kulprathipanja S., Hillock A. M. W., Husain S., Koros W. J., v knize: *Recent Progress in Mixed-Matrix Membranes* (Li N. N., Fane A. G., Ho W. S. W., Matsuura T., ed.), kap. 6., str. 787. John Wiley & Sons, Hoboken 2008.
- Weng T. H., Tseng H. H., Wey M. Y.: Int. J. Hydrogen Energy 35, 6971 (2010).
- Rostamizadeh M., Rezakazemi M., Shahidi K., Mohammadi T.: Int. J. Hydrogen Energy 38, 1128 (2013).
- Nour M., Berean K., Balendhran S., Ou J. Z., Du Plessis J., McSweeney C., Bhaskaran M., Sriram S., Kalantar-zadeh K.: Int. J. Hydrogen Energy 38, 10494 (2013).
- Dong G., Li H., Chen V.: J. Mater. Chem. A1, 4610 (2013).
- Mahajan R.: *Formation, Characterization and Modeling of Mixed Matrix Membrane Materials. Ph.D. Dissertation.* The University of Texas at Austin, Texas, 2000.
- Chung T. S., Jiang Y. L., Li Y., Kulprathipanja S.: Prog. Polym. Sci. 32, 483 (2007).
- Anson M., Marchese J., Garis E., Ochoa N., Pagliero C.: J. Membr. Sci. 243, 19 (2004).
- Basu S., Cano-Odena A., Vankelecom I. F. J.: J. Membr. Sci. 362, 478 (2010).
- Liu X. L., Li Y. S., Zhu G. Q., Ban Y. J., Xu L. Y., Yang W. S.: Angew. Chem., Int. Ed. 50, 10636 (2011).
- Bae T. H., Lee J. S., Qiu W., Koros W. J., Jones C. W., Nair S.: Angew. Chem., Int. Ed. 49, 9863 (2010).
- Jomekian A., Pakizeh M., Shafiee A. R., Mansoori S. A. A.: Sep. Purif. Technol. 80, 556 (2011).
- Idris A., Ahmed I.: J. Appl. Polym. Sci. 108 (1), 302

- (2008).
35. Duval J. M., Folkers B., Mulder M. H. V., Desgrandchamps G., Smolders C. A.: *J. Membr. Sci.* **80**, 189 (1993).
  36. Díaz K., López-González M., del Castillo L. F., Riande E.: *J. Membr. Sci.* **383**, 206 (2011).
  37. Adams R., Carson C., Ward J., Tannenbaum R., Koros W.: *Microporous Mesoporous Mater.* **131**, 13 (2010).
  38. Yong W. F., Li F. Y., Xiao Y. C., Li P., Pramoda K. P., Tong Y. W., Chung T. S.: *J. Membr. Sci.* **407–408**, 47 (2012).
  39. Shi G. M., Yang T., Chung T. S.: *J. Membr. Sci.* **415–416**, 577 (2012).
  40. Mahajan R., Koros W. J., *Polym. Eng. Sci.* **42**, 1420 (2002).
  41. Shamshina L. J., Zavgorodnya O., Rogers D. R., v knize: *Ionic Liquids, Encyclopedia of Analytical Science* (3. vyd.) (Worsfold P., Townshend A., Poole C., Miro M., ed.), str. 218. Academic Press, Amsterdam 2019.
  42. Žitka J., Pientka Z.: *Chem. Listy* **111**, 192 (2017).
  43. Ferraz R., Prudêncio C., Vieira M., Fernandes R., Noronha J. P.: *Org. Chem.: Curr. Res.* **4**, 1 (2015).
  44. Larsen A. S., Holbrey J. D., Tham F. S., Reed C. A.: *J. Am. Chem. Soc.* **122**, 7264 (2000).
  45. Mohshim D. F., Mukhtar H., Man Z.: *Sep. Purif. Technol.* **196**, 20 (2018).
  46. Singh Z. V., Cowan M. G., McDanel W. M., Luo Y., Zhou R., Gin D. L., Noble R. D.: *J. Membr. Sci.* **509**, 149 (2016).
  47. Shindo R., Kishida M., Sawa H., Kidesaki T., Sato S., Kanehashi S., Nagai K.: *J. Membr. Sci.* **454**, 330 (2014).
  48. Ilyas, A., Muhammad N., Gilani M. A., Vankelecom I. F. J., Khan A. L.: *Sep. Purif. Technol.* **205**, 176 (2018).
  49. Li H., Tuo L., Yang K., Jeong H. K., Dai Y., He G., Zhao W.: *J. Membr. Sci.* **511**, 130 (2016).
  50. Hao L., Li P., Yang T., Chung T. S.: *J. Membr. Sci.* **436**, 221 (2013).
  51. Huang G., Isfahani A. P., Muchtar A., Sakurai K., Shrestha B. B., Qin D., Yamaguchi D., Sivaniah E., Ghalei B.: *J. Membr. Sci.* **565**, 370 (2018).
  52. Casado-Coterillo C., Del Mar López-Guerrero M., Irabien A.: *Membranes* **4**, 287 (2014).
  53. Friess K., Izák P., Kárászová M., Pasichnyk M., Lanč M., Nikolaeva D., Luis P., Jansen, J. C.: *Membranes* **11**, 97 (2021).
  54. Tome L. C., Marrucho I. M.: *Chem. Soc. Rev.* **45** (10), 2785 (2016).
  55. Bai L., Zeng S., Han J., Yang B., Deng L., Gao H., Zhang X., v knize: *Current Trends and Future Developments on (Bio-) Membranes* (Basile A., Curcio E., Inamuddin D., ed.) str. 235. Elsevier, Amsterdam 2018.
  56. Ban Y., Li Z., Li Y., Peng Y., Jin H., Jiao W., Guo A., Wang P., Yang Q., Zhong C., Yang W.: *Angew. Chem., Int. Ed.* **54**, 15483 (2015).
  57. Lin R., Ge L., Diao H., Rudolph V., Zhu Z.: *ACS Appl. Mater. Interfaces* **8**, 32041 (2016).
  58. Ahmad N. N. R., Leo C. P., Mohammad A. W., Ahmad A. L.: *Microporous Mesoporous Mater.* **244**, 21 (2017).
  59. Jomekian A., Bazooyar B., Behbahani R. M., Mohammadi T., Kargari A.: *J. Membr. Sci.* **524**, 652 (2017).
  60. Hoang V. T., Kaliaguine S.: *Chem. Rev.* **113**, 4980 (2013).
  61. Li J. R., Kuppler R. J., Zhou H. C.: *Chem. Soc. Rev.* **38**, 1477 (2009).
  62. Sumida K., Rogow D. L., Mason J. A., McDonald T. M., Bloch E. D., Herm Z. R., Bae T. H., Long J. R.: *Chem. Rev.* **112**, 724 (2011).
  63. Chen B., Liang C., Yang J., Contreras D. S., Clancy Y. L., Lobkovsky E. B., Yaghi O. M., Dai S., *Angew. Chem., Int. Ed.* **118**, 1418 (2006).
  64. Yoon M., Srirambalaji R., Kim K.: *Chem. Rev.* **112**, 1196 (2011).
  65. Allendorf M. D., Houk R. J., Andruszkiewicz L., Talin A. A., Pikarsky J., Choudhury A., Gall K. A., Hesketh P. J.: *J. Am. Chem. Soc.* **130**, 14404 (2008).
  66. Adatoz E., Avci A. K., Keskin S.: *Sep. Purif. Technol.* **152**, 207 (2015).
  67. Zornoza B., Tellez C., Coronas J., Gascon J., Kapteijn F.: *Microporous Mesoporous Mater.* **166**, 67 (2013).
  68. Zhang Y. F., Musselman I. H., Ferraris J. P., Balkus K. J.: *J. Membr. Sci.* **313**, 170 (2008).
  69. Perez E. V., Balkus K. J., Ferraris J. P., Musselman I. H.: *J. Membr. Sci.* **328**, 165 (2009).
  70. Díaz K., Garrido L., Lopez-Gonzalez M., del Castillo L. F., Riande E.: *Macromolecules* **43**, 316 (2010).
  71. Ordoñez M. J. C., Balkus K. J., Ferraris J. P., Musselman I. H.: *J. Membr. Sci.* **361**, 28 (2010).
  72. Bae T. H., Lee J. S., Qiu W. L., Koros W. J., Jones C. W., Nair S.: *Angew. Chem., Int. Ed.* **122**, 10059 (2010).
  73. Zornoza B., Seoane B., Zamaro M. J., Téllez C., Coronas J.: *ChemPhysChem* **12**, 2781 (2011).
  74. Cao L., Tao K., Huang A., Kong C., Chen L.: *Chem. Commun.* **49**, 8513 (2013).
  75. Li W., Zhang G., Zhang C., Meng Q., Fana Z., Gao C.: *Chem. Commun.* **50**, 3214 (2014).
  76. Seoane B., Coronas J., Gascon I., Benavides M. E., Karvan O., Caro J., Kapteijn F., Gascon J.: *Chem. Soc. Rev.* **44**, 2421 (2015).
  77. Belmabkhout Y., Guillerm V., Eddaoudi M.: *Chem. Eng. J.* **296**, 386 (2016).
  78. Li H., Wang K., Sun Y., Lollar C. T., Li J., Zhou H. C.: *Mater. Today* **21**, 108 (2018).
  79. Lin Y., Kong C., Zhang Q., Chen L.: *Adv. Energy Mater.* **7**, 1601296 (2017).
  80. Hu Z., Wang Y., Shah B. B., Zhao D.: *Adv. Sustainable Syst.* **3** (1), 1800080 (2019).

**K. Hamalová and Z. Kolská** (*Centre for Nanomaterials and Biotechnology, Faculty of Science, J. E. Purkyně University in Ústí nad Labem, Ústí nad Labem, Czech Republic*): **Mixed Matrix Membranes for Carbon Dioxide Capture**

Mixed-matrix membranes, MMM, have been a very popular research topic for many scientists in many fields during the last few years. This work provides an overview of general properties, interesting structural components, potential applications, as well as pitfalls and drawbacks in the preparation of membranes of this type. MMM, especially when combined with ionic liquids, IL, and/or organometallic frames, MOF, represent one of the best and very promising options for industrial applications, specifically for the capturing and separation of CO<sub>2</sub>. As a result, the properties of these two fillers (IL and/or MOF) can enable us to prepare membranes with a higher separation and permeability efficiency, chemical and mechanical resistance, and thermal stability. Unfortunately, the toxicity

and stability of the individual components of the membranes and the resulting mixed matrix membranes have not yet been investigated in detail and further research is needed. One of the main drawbacks is a very high cost of the production of the individual parts and the subsequent assembly of these composite membranes. This is the reason why we still do not see these MMM being used widely in industry.

Keywords: mixed matrix membranes, ionic liquids, metal organic frameworks, carbon dioxide capture and separation, polymers

- Hamalová K., Kolská Z.: Chem. Listy 116, 672–680 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/ch120220672>

*Acknowledgements*

*This work was supported by The Czech Science Foundation (GACR), grant no. 20-01639S.*



## POLYIMIDY NA BÁZE SUROVÍN Z OBNOVITEĽNÝCH ZDROJOV

MICHAELA ŠUSTEROVÁ a PETR SYSEL

Ústav polymerů, Vysoká škola chemicko-technologická  
v Praze, Technická 3, 166 28 Praha 6  
michaela.susterova@gmail.com

Došlo 7.6.22, prijaté 12.7.22.

Kľúčové slová: polyimidy, recentné suroviny, alicyklické monoméry, udržateľné polyméry

• <https://doi.org/10.54779/chl20220681>

## Obsah

1. Úvod
2. Polyimidy
  - 2.1. Syntéza polyimidov
  - 2.2. Vlastnosti polyimidov
3. Monoméry na recentnej báze pre syntézu polyimidov
4. Príprava a popis nových bio-polyimidov
5. Záver

## 1. Úvod

Syntetické polyméry, ktoré sa pripravujú najmä z látok s fosílnym pôvodom (ropa), sa stali nevyhnutnou a každodennou súčasťou nášho života či už v podobe domácich potrieb a textilu až po sofistikované inžinierske materiály používané napríklad v biomedicíne, leteckej technike či elektronike. Veľký dopyt po týchto materiáloch má však za následok znečistenie životného prostredia a dopadá aj na vyčerpanie zásob fosílnych surovín, a preto tiež bolo a stále je vynakladané úsilie nájsť obnoviteľné (recentné) zdroje a produkovať polyméry na báze prírodných surovín (tzv. bio-based polyméry)<sup>1</sup>.

V oblasti udržateľnej chémie už boli dosiahnuté pokroky s využitím biomasy. Biomasa je synonymum pre organický materiál biogénneho, tzn. nefosílného, charakteru, zahŕňajúc aj živú a rastúcu hmotu v prírode a odpadové materiály. Pod tento pojem teda spadajú okrem rastlinami produkovaných polysacharidov (celulóza, hemicelulóza, škrob) a lignínu tiež suchozemské a morské rastlinné materiály (tiež ich zvyšky a vedľajšie produkty) a živočíšne odpady<sup>2</sup>. Monoméry na biologickej báze boli už využité k syntéze polyuretánov, polykarbonátov, polyesterov či polyamidov a v súčasnosti sa venuje zvýšená pozornosť tiež možnosti produkcie tzv. bio-polyimidov (bio-PI)<sup>1</sup>.

Nasledujúci text sa zaoberá problematikou prípravy nových PI v kontexte využitia monomérov s biologickým

pôvodom. Počiatočná časť pojednáva o PI vo všeobecnej rovine, o možnostiach ich prípravy a ich vlastnostiach s prihliadnutím k ich novej modifikácii ako dôsledku zavedenia špecifických chemických štruktúr/skupín do polymérneho reťazca. Ďalšiu časť predstavuje krátky popis prípravy a získavania monomérov, tzn. diamínov a dianhydridov, z obnoviteľných surovín. Posledná časť zahŕňa popis vlastnej syntézy PI na báze alicyklického bio-monoméru dianhydridu kyseliny 1,2,3,4-cyklobután-tetrakarboxylovej (CBDA) a vlastností týchto produktov, pričom ich porovnáva s plne aromatickým produktom na báze dianhydridu kyseliny pyromellitovej (PMDA) a 4,4'-oxydianilínu (ODA); tento produkt je komerčne dostupný pod názvom Kapton<sup>®</sup>.

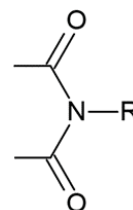
## 2. Polyimidy

Prvým syntézam produktov obsahujúcich imidové skupiny sa už v roku 1908 začal venovať Bogert a v roku 1955 boli získané aromatické PI s vysokou molekulovou hmotnosťou ako produkty dvojstupňovej polyreakcie, dnes známe ako Kapton<sup>®</sup>. Záujem o tieto polyméry odvtedy neustále rastie, za čím stoja hlavne vlastnosti PI, napríklad ich termooxidačná stabilita, jedinečné elektrické vlastnosti, vysoká odolnosť voči žiareniu a rozpúšťadlám či vysoká mechanická pevnosť. Využitie našli PI v pokročilých aplikáciách v letectve, kozmonautike, mikroelektronike, separačných membránach, optických zariadeniach, senzorocho, alebo ako polymérne matrice v kompozitných materiáloch<sup>3,4</sup>.

Základom ich štruktúry je prítomnosť imidovej skupiny (viď obr. 1), definovanej atómom dusíku viazaného k dvom susedným karboxylovým atómom uhlíku. Najčastejšie sa vyskytuje imidová štruktúra ako súčasť päť- alebo šesťčlenného cyklu<sup>5</sup>.

## 2.1. Syntéza polyimidov

Pre prípravu PI sú kľúčovými monomérmi dianhydridy karboxylových kyselín a diamíny, príp. aj diizokyanáty, a známych je viacero syntetických prístupov. Dvojkoľková syntéza je najvyužívanejším postupom pri príprave



Obr. 1. Štruktúra imidovej skupiny

lineárných PI. Táto polyreakcia zahŕňa krok, keď sa tvorí prekursor polyamidkarboxylová kyselina (PAA), a ktorý prebieha vo vysokovriacom rozpúšťadle pri nízkych až stredných teplotách. Imidový kruh sa najčastejšie vytvorí termickou imidizáciou pri teplote až 250 °C, v špeciálnych prípadoch možno využiť i chemickú cestu. Reakčnú schému dvojstupňovej syntézy, kde Ar predstavuje aromatickú, Al alicyklickú štruktúru, R môže reprezentovať aromatickú, alicyklickú alebo alifatickú štruktúru, ukazuje obr. 2. Ďalšou možnosťou je jednokroková syntéza. Týmto postupom môžu byť monoméry priamo prevedené na konečné produkty obvykle rozpustné v reakčnom systéme, pričom zmiešanie diamínu s dianhydridom v rozpúšťadle prebieha pri teplote 180 až 200 °C. Konverzia monomérov na PI tu prebieha rýchlo a medziprodukt PAA je prakticky nedetekovateľný<sup>4,6-8</sup>.

## 2.2. Vlastnosti polyimidov

Vlastnosti PI závisia na jeho štruktúre. Plne aromatické PI dosahujú vysokú tuhosť, sú rigidné a medzi reťazcami sa vyskytujú silné interakcie, následkom čoho sú tieto PI veľmi málo rozpustné a netavitelné, čo limituje ich spracovanie klasickými metódami využívanými bežne pre termoplasty (napr. vstrekovanie či vytlačovanie). Tieto interakcie sú výsledkom tvorby intra- a interreťazcového prenosu náboja a polarizácie. S cieľom dosiahnuť ľahšie spracovanie PI, ovplyvniť molekulárne interakcie, narušiť usporiadanie makromolekúl a zvýšiť rozpustnosť boli už študované rôzne štruktúrne zmeny vzniknuté v dôsledku zavedenia tepelne stabilných, ale flexibilných spojok do reťazca (–O–, –CH<sub>2</sub>–, –SO<sub>2</sub>–), začlenenia polárnych či nepolárnych substituentov. Skúmalo sa tiež nahradenie symetrických štruktúr asymetrickými, zavedenie objemných substituentov a zalomených/nekoplanárnych štruktúr alebo prístup kopolymerizácie<sup>3,7</sup>.

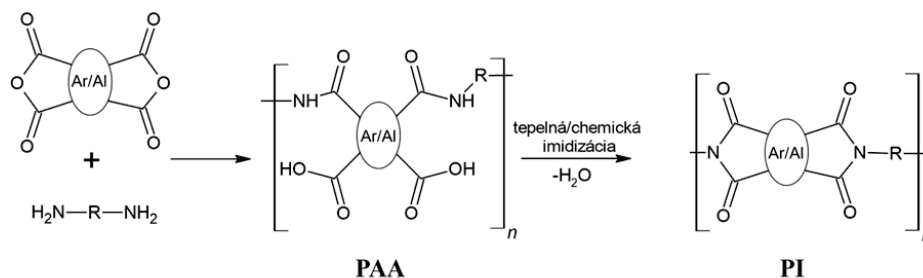
PI majú veľmi dobré tepelné a dielektrické vlastnosti. Vďaka teplotnej odolnosti a adhézii k rade materiálov sa používajú ako vysokoteplotné štruktúrne lepidlá či vysokoteplotné matrice vo vyššie zmienených aplikáciách. Za vysokou tepelnou stabilitou PI až do oblastí trvalo okolo 200 °C je ich aromatický charakter, silné medzireťazcové interakcie a pomerne inertný imidový kruh. Tepelnú stabilitu možno ešte zvýšiť modifikáciou koncových skupín polyméru. Počas tepelného rozkladu sa ako hlavný produkt uvoľňuje oxid uhoľnatý z imidového kruhu<sup>6,9</sup>.

PI dosahujú výborné mechanické vlastnosti, ktoré sú ovplyvnené štruktúrou, molekulovou hmotnosťou a procesom prípravy. Vo všeobecnosti sa pevnosti v ťahu pre PI pohybujú medzi 70–100 MPa s modulom pružnosti medzi 1,5 až 3 GPa a predĺžením pri prerhnutí od 3 do 15 %, pričom pro PI s flexibilnými jednotkami v štruktúre môže predĺženie dosahovať vyšších hodnôt. Platí, aj keď nie absolútne, že polyméry s vyšším modulom vykazujú menšie predĺženie<sup>3</sup>.

Prenos náboja medzi donorovými aminovými a akceptorovými anhydridovými skupinami spôsobuje to, že PI sú obecné sfarbené do žltá až hnedá. Zafarbenie sa môže meniť v závislosti od toho, ako je štruktúra modifikovaná. Vplyv má napríklad trifluórmetylová (–CF<sub>3</sub>) skupina, ktorá je silným akceptorom elektrónov, alebo zavedenie alifatickej štruktúry. Tieto modifikácie redukujú interakcie spojené s prenosom náboja, čo môže vo výsledku viesť až k takmer bezfarebným produktom. Vznik prenosu náboja má vplyv tiež na optickú priepustnosť v spektre vlnových dĺžok viditeľného svetla, ktorá je znížená najmä u plne aromatických PI, ktorých štruktúry obsahujú konjugované väzby. Obecnne sa dá optická priepustnosť zvýšiť zavedením ohybných spojok, objemných substituentov alebo nekoplanárnych skupín do hlavného či vedľajšieho reťazca. Optické a elektrické vlastnosti možno upraviť začlenením chromofórov (trifenylaminová, karbazolová, perylénová štruktúra)<sup>3,10</sup>.

Rozpustnosť je parametrom, ktorý do istej miery súvisí s možnosťou spracovania polymérov. PI sú často veľmi málo rozpustné až nerozpustné v klasických organických rozpúšťadlách a navyše majú vysokú teplotu mäknutia, čo má za následok náročné a nákladné spracovanie. Riešením je využitie prekursoru PAA, z ktorého sa odlieva film, ktorý následne podstúpi imidizáciu. Rozpustnosť a spracovateľnosť z taveniny zlepšuje zavedenie objemných substituentov či flexibilných spojok do štruktúry PI (cit.<sup>3</sup>).

Čoraz významnejšími sa stávajú pre oblasť PI alicyklické a alifatické monoméry. Zabudovanie takýchto štruktúr do polymérneho reťazca ovplyvňuje vlastnosti PI, čo je dôsledkom nízkej hustoty (nie tak tesného usporiadania molekúl ako je tomu v prípade plne aromatických PI), slabšej polarizácie a nízkej pravdepodobnosti vzniku intera intramolekulárneho prenosu náboja. Alicyklické dianhydridy majú slabú schopnosť elektróny prijať a alicyklické, resp. alifatické, diamíny elektróny darovať,



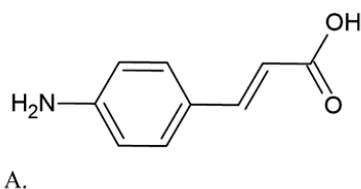
Obr. 2. Schéma dvojškroovej syntézy PI cez prekursor PAA

čím sa potlačí tvorba interakcií s prenosom náboja<sup>3,11</sup>. Predmetom záujmu sa stali najmä alicyklické dianhydridy, keďže aminoskupiny alicyklického diamínu sú príliš bážické a pre syntézu tak predstavujú problém z dôvodu tvorby soli PAA (cit.<sup>12</sup>). Pozornosť sa už venovala využitiu dianhydridov kyselín 1,2,3,4-cyklobutántetrakarboxylovej<sup>13</sup>, 1,2,3,4-cyklopentántetrakarboxylovej<sup>14</sup>, 1,2,4,5-cyklohexántetrakarboxylovej<sup>15</sup>, bicyklo[2.2.2]okt-7-én-2,3,5,6-tetrakarboxylovej<sup>11</sup> či dicyklohexyltetrakarboxylovej<sup>16</sup>.

### 3. Monoméry na recentnej báze pre syntézu polyimidov

Okrem modifikácie vlastností PI skrz alicyklické monoméry je ďalšou výhodou potenciálny bio-základ niektorých z nich. Väčšina v súčasnosti používaných chemikálií a polymérov je totiž založená na fosílnych surovinách. Nežiaduce environmentálne a sociálne-ekonomické dôsledky a obmedzené zásoby tohto zdroja vedú k rastúcemu záujmu o využívanie biomasy ako suroviny pre výrobu chemikálii, polymérov a iných materiálov. Takéto polyméry potom možno nazvať ako udržateľné a možno ich rozdeliť do dvoch kategórií – prírodné polyméry (celulóza, lignín, škrob, atď.) a syntetické polyméry na prírodnej báze (tzv. bio-based, získané z biomasy). Používanie týchto polymérov môže zabrániť závislosti od ropných zdrojov a pomôcť znížiť emisie uhlíka, no rozšírenie ich používania je zatiaľ limitované viacerými prekážkami, zahŕňajúc napr. náklady či ich termomechanický výkon (obecne majú nižšiu tepelnú a mechanickú stabilitu)<sup>17</sup>.

Niektoré alifatické diamíny môžu byť produkované aj biotechnologickými postupmi – fermentáciou, bunkovou konverziou, enzymatickými procesmi – využívajúcimi mikroorganizmy<sup>18</sup>, no z dôvodu už zmienenej prílišnej zásaditosti ich aminoskupín je ich využitie pre syntézu PI limitované. Táto skutočnosť tak komplikuje otázku prípravy plne bio-PI, keďže aromatické diamíny nie je možné získať biosyntézou z dôvodu ich nekompatibility s mikroorganizmami a rastlinnými bunkami, pravdepodobne v dôsledku kombinácie interakcií iónových a hydrofóbných, a faktorov súvisiacich s  $\pi$ -elektrónmi, ktoré sú prítomné práve v aromatických látkach. Pre prípravu týchto monomérov je však možno využiť syntetické postupy s využitím látok na biologickej báze – príkladom je diamín odvodený od kyseliny 4-aminoškoricovej (4-ACA), ktorá je produkovaná bakteriálnymi kmeňmi.



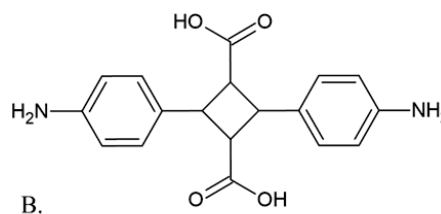
4-ACA možno previesť fotodimerizáciou na dichlorid a následne na diestery kyseliny 4,4'-diamino- $\alpha$ -truxilovej (4-ATA); 4-ACA a z nej odvodená 4-ATA sú ukázané na obr. 3. Estery 4-ATA boli potom využité pre syntézu rady PI dvojstupňovou syntézou cez prekursor PAA v kombinácii so štruktúrne rozličnými dianhydridmi. Pripravené PI vykazovali vysokú tepelnú stabilitu a vysoké hodnoty mechanických vlastností<sup>19</sup>.

Pre syntézu PI sa spolu s diamínmi využívajú dianhydridy tetrakarboxylových kyselín. Na význame naberajú stále viac tie, ktoré obsahujú alicyklické jednotky v štruktúre a ktoré ako monoméry majú z vyššie uvedených dôvodov väčší potenciál pri modifikácii vlastností výsledných PI. Pri ich syntéze sú však použité surové podmienky, často sa využíva foto-ožiarenie alebo vysokotlaková oxidácia kyselinou dusičnou alebo ozónom, čo robí syntézu náročnou a drahou. Ako príklad možno uviesť prípravu CBDA ožiarением roztoku anhydridu kyseliny maleínovej v dioxáne vysokotlakovou ortuťovou lampou<sup>3</sup>. Tento dianhydrid však možno zaradiť medzi monoméry získateľné aj zo surovín na biologickej báze, keďže biomaleínová kyselina sa dá pripraviť kaskádou reakcií z furfuralu (ten sa získa z biomasy). Na CBDA možno previesť aj kyselinu fumarovú, ktorá sa extrahuje z rastliny *Fumaria officinalis*, eventuálne sa získa fermentáciou<sup>20,21</sup>. Na báze CBDA boli už pripravené filmy s vysokou tepelnou odolnosťou a transparentnosťou<sup>22</sup>, kompozitné materiály<sup>23</sup> či PI na plne biologickej báze v kombinácii s esterami 4-ATA (cit.<sup>19</sup>).

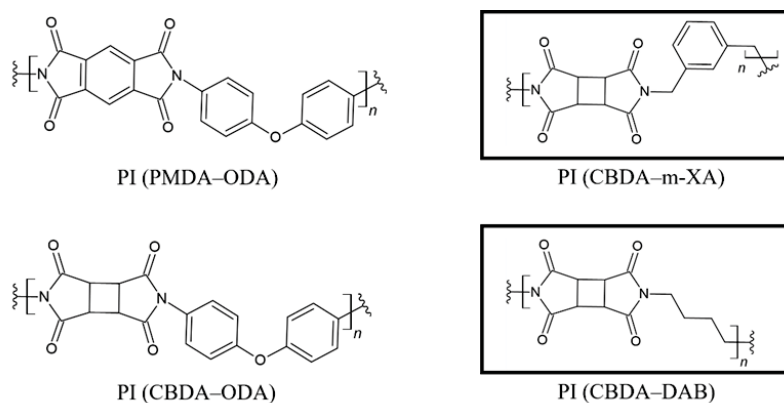
### 4. Príprava a popis nových bio-polyimidov

Využitie CBDA však umožňuje aj prípravu ďalších PI na potenciálne obnoviteľnej báze. Tu uvádzame v súčasnej dobe v našom laboratóriu syntetizované nové polymérne materiály (obr. 4), pričom do súvislostí sa dáva ich chemická štruktúra a vlastnosti.

Dva z týchto pripravených materiálov možno považovať za PI na plne biologickej báze. Ide o PI získané kombináciou CBDA s *m*-xylyldiamínom (*m*-XA) a s 1,4-diaminobutánom (DAB), označené ako PI (CBDA-*m*-XA) a (CBDA-DAB). DAB je totiž možné získať biosyntézou, prebiehajúcou v širokom spektre organizmov (napr. *Escherichia coli* alebo *Corynebacterium glutamicum*) prostredníctvom aminokyselín L-arginínu alebo L-ornitínu<sup>18</sup> a pri syntéze *m*-XA možno vyjsť z furfuralu (ten sa dá získať



Obr. 3. Chemická štruktúra (A) 4-ACA a (B) 4-ATA



Legenda:

PMDA – dianhydrid kyseliny pyromellitovej

CBDA – dianhydrid kyseliny 1,2,3,4-

cyklobutántetrakarboxylovej

ODA – 4,4'-oxydianilín

m-XA – *m*-xylyldiamín

DAB – 1,4-diaminobután

Obr. 4. Štruktúry pripravených PI

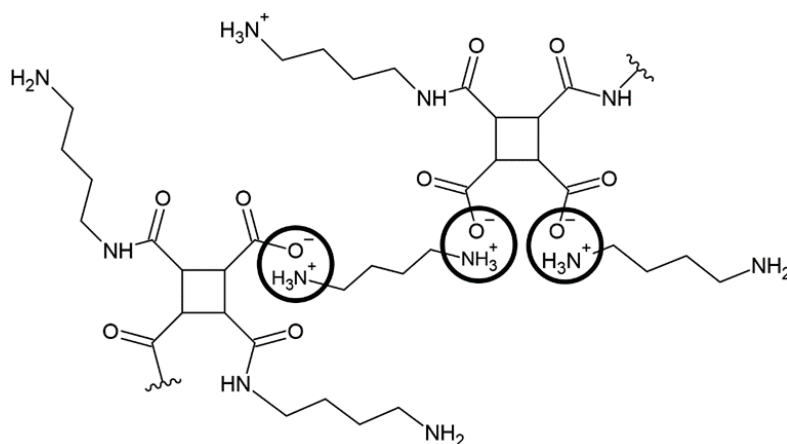
z biomasy) a akrylonitrilu<sup>24</sup>, alternatívou sú fenolické zlúčeniny (eugenol, ferulová kyselina, vanilín, kardanol, katechol), ktoré možno priamo extrahovať a izolovať z prírodných zdrojov, eventuálne je možné využiť odpad z agropriemyslu (drevo, orechové škrupiny)<sup>25</sup>.

K príprave PI bol využitý primárne prístup dvojstupňovej syntézy v prostredí rozpúšťadla *N*-metyl-2-pyrrolidónu s následnou tepelnou imidizáciou s finálnou teplotou ohrevu 250 °C. Vznik prekursoru a následne PI bol potvrdený infračervenou spektroskopiou. Použitie alicyklického dianhydridu s alifatickým diamínom pri príprave prekursoru PAA (CBDA–DAB) však viedlo k vzniku nerozpustnej zrazeniny v reakčnej zmesi. Z literatúry je známe, že v prípade použitia alicyklického/alifatického diamínu dochádza k tvorbe soli PAA (zobrazenie soli PAA

(CBDA–DAB) ukazuje obr. 5) v dôsledku vysokej bazicity aminoskupiny takéhoto aminu. Soľ sa tvorí už na začiatku reakcie a jej fyzikálne zosieťovaná štruktúra ako výsledok acidobázických interakcií vedie k heterogénnemu systému, keď sa vzniknutá zrazenina nerozpúšťa v bezvodých amidických rozpúšťadlách<sup>4</sup>.

Okrem dvojstupňovej syntézy je možná aj jednostupňová. Práve tá sa ukazuje ako vhodný postup pre prípravu PI s využitím vysoko bazických diamínov, keď sa reakčnými podmienkami zabráni vzniku zrazeniny PAA.

Po termickej imidizácii sa vyhodnocovala schopnosť materiálov tvoriť súvislé filmy. Kapton<sup>®</sup> je známy touto svojou vlastnosťou, ostatné materiály však tiež vykazovali filmtvorné vlastnosti, s výnimkou PI (CBDA–DAB), výsledkom ktorého po termickom procese bol prášok. Ter-



Obr. 5. Schematické zobrazenie acidobázických interakcií v PAA (CBDA–DAB)

mická stabilita sa stanovuje s využitím termogravimetrickej analýzy, na základe ktorej možno určiť teplotu, pri ktorej dochádza k tepelnému rozkladu materiálov, označovanej ako  $T_{10\%}$  (teplota, pri ktorej dôjde k strate desiatich hmotnostných percent). Plne aromatický PI Kapton® dosahuje v tomto smere vysoké hodnoty ( $T_{10\%} > 550\text{ °C}$ ), ďalšie pripravené semiaromatické PI sú tepelne stabilné menej z dôvodu začlenenia alicyklických segmentov. Dosiahnuté  $T_{10\%}$  pre tieto materiály klesali v rade podľa použitého diamínu ODA > *m*-XA > DAB a pohybovali sa v oblasti okolo 430 °C pre semiaromatické a pod 100 °C pre alicyklicko-alifatický PI.

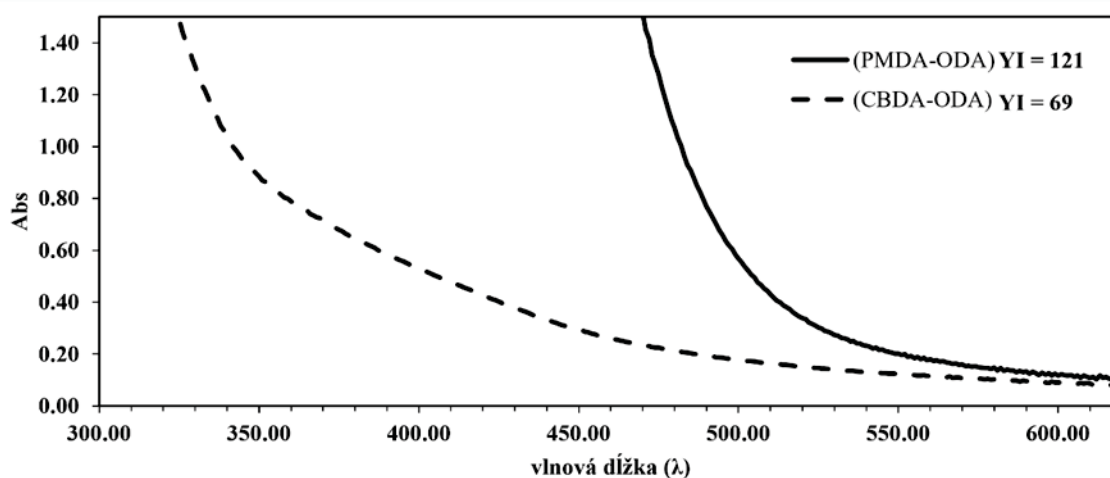
Nepřítomnosť aromatických segmentov v štruktúre PI má za následok potlačenie prenosu náboja medzi reťazcami, nižšiu hustotu a polarizovateľnosť makromolekúl. Začlenenie alicyklických štruktúr do polyimidových reťazcov sa preto považuje za jeden z efektívnych spôsobov, ako zvýšiť optickú transparentnosť<sup>4</sup>. Na obr. 6 sú ukázané výrezy z UV/Vis spektier pre pripravené materiály, ktoré poskytli transparentné filmy, spolu s hodnotami indexu žltosti (YI), kde hodnota nula prislúcha ideálne bielej/priehľadnej vzorke a s rastúcou hodnotou je viac žltá. PI (CBDA-*m*-XA) a (CBDA-DAB) neumožnili analýzu UV/Vis spektroskopiou, no pre PI na báze *m*-XA bolo možné zmerať aspoň YI, ktorý bol pre tento polymér rovný hodnote 75.

Aromatické PI dosahujú jedny z najvyšších hodnôt mechanických vlastností, ak ide o komerčné plasty, ako výsledok interakcií medzi reťazcami s aromatickým charakterom. Naopak, plne alicyklické/alifatické PI majú mechanické vlastnosti obecné horšie, hoci zavedenie týchto segmentov do reťazca za určitých podmienok molekulárneho usporiadania môže zachovať mechanické vlastnosti v medziach požadovaných hodnôt<sup>4,5</sup>. V prípade pripravených semiaromatických PI mali na dosiahnuté hodnoty mechanických vlastností vplyv najmä použité diamíny. Tieto monoméry obsahovali vo svojej štruktúre rôzne typy spojok, ktoré ovplyvnili hlavne krehkosť polyimidových filmov.

Rozpustnosť PI je v organických rozpúšťadlách limitovaná, ale k dispozícii sú postupy, ako rozpustnosť zvýšiť. Spomenúť možno zavedenie ohybných spojok, nekopolanárnych, nesymetrických, alicyklických a iných štruktúr brániacich vzniku prenosu náboja do hlavného reťazca, príp. začlenenie bočných skupín<sup>4</sup>. Napriek prítomným alicyklickým segmentom vo vybraných PI, nemali semiaromatické produkty zlepšenú rozpustnosť. Dôvodom je zrejme vysoká rigidita cyklobutánovej časti v CBDA. Určitým riešením problému obmedzených mechanických vlastností a tiež rozpustnosti môže byť vytvorenie vrstvy roztoku prekursoru na vhodnom substráte nasledovane termickou expozíciou (imidizáciou).

## 5. Záver

Zavádzanie rôznych funkčných skupín a špecifických štruktúr do polymérnych reťazcov PI sa uskutočňuje s cieľom modifikovať ich vlastnosti a uľahčiť ich spracovanie. Tiež sa do pozornosti čoraz viac dostávajú monoméry získané z obnoviteľných surovín. V rámci výskumu sme sa venovali príprave nových PI na báze potenciálne recentného CBDA s prihliadnutím na zisk takých produktov, ktoré by bolo možné považovať za plne na biologickej báze s využitím ďalších monomérov majúcich tento potenciál – *m*-XA a DAB. Ukázalo sa, že takéto PI možno získať dvojestupňovou alebo jednostupňovou syntézou. Zlepšenú rozpustnosť, s ktorou je späté spracovanie týchto polymérov, sme však zavedením jednotiek CBDA do makromolekúl nedosiahli. Zanesenie alicyklických segmentov skrz CBDA do polymérnych reťazcov ale viedlo k zlepšeniu optických parametrov pripravených filmov v porovnaní s plne aromatickým, no filmy na jeho báze boli krehkejšie. Pripravili sme radu materiálov, ktoré na základe použitého dianhydridu možno označiť prinajmenšom ako čiastočne bio-PI.



Obr. 6. Výrez z UV/Vis spektier a namerané hodnoty YI pripravených materiálov

*Táto práca bola finančne podporená z projektu GA ČR č. 20-06264S.*

#### Zoznam použitých skratiek

4-ACA	kyselina 4-aminoškoricová
4-ATA	kyselina 4,4'-diamino- $\alpha$ -truxilová
CBDA	dianhydrid kyseliny 1,2,3,4-cyklobután-tetrakarboxylovej
DAB	1,4-diaminobután
<i>m</i> -XA	<i>m</i> -xylylendiamín
ODA	4,4'-oxydianilín
PAA	polyamidkarboxylová kyselina
PI	polyimid(y)
PMDA	dianhydrid kyseliny pyromellitovej
YI	index žltutia

#### LITERATÚRA

- Chen C.-K., Lin Y.-C., Hsu L.-C., Ho J.-C., Ueda M., Chen W.-C.: ACS Sustainable Chem. Eng. 9, 3278 (2021).
- Pascault J. P., Höfer R., Fuertes P., v knihe: *Polymer Science: A Comprehensive Reference* (Matyjaszewski K., Möller M., ed.), str. 59. Elsevier, Amsterdam 2012.
- Liaw D.-J., Wang K.-L., Huang Y.-C., Lee K.-R., Lai J.-Y., Ha C.-S.: Prog. Polym. Sci. 37, 907 (2012).
- Zhuang Y., Seong J. G., Lee Y. M.: Prog. Polym. Sci. 92, 35 (2019).
- Bryant R. G., v knihe: *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* (Ley C., ed.), str. 1. Wiley-VCH, Weinheim 2014.
- Elvers B. (ed.): *Ullmann's Polymers and Plastics, 4 Volume Set: Products and Processes*. Wiley-VCH, Weinheim 2016.
- Tsai C.-L., Yen H.-J., Liou G.-S.: React. Funct. Polym. 108, 2 (2016).
- Kuhire S. S., Ichake A. B., Grau E., Cramail H., Wadgaonkar P. P.: Eur. Polym. J. 109, 257 (2018).
- Ramgobin A., Fontaine G., Bourbigot S.: Fire Saf. J. 120, 103060 (2021).
- Yi C., Li W., Shi S., He K., Ma P., Chen M., Yang C.: Sol. Energy 195, 340 (2020).
- Zhang M., Liu W., Gao X., Cui P., Zou T., Hu G., Tao L., Zhai L.: Polymers 12, 1532 (2020).
- Zhai L., Yang S., Fan L.: Polymer 53, 3529 (2012).
- Hasegawa M.: Polymers 9, 520 (2017).
- Schab-Balcerzak E., Grobelny L., Sobolewska A., Miniewicz A.: Eur. Polym. J. 42, 2859 (2006).
- Liu H., Zhai L., Bai L., He M., Wang C., Mo S., Fan L.: Polymer 163, 106 (2019).
- Hu X., Mu H., Wang Y., Wang Z., Yan J.: Polymer 134, 8 (2018).
- Wang Z., Ganewatta M. S., Tang C.: Prog. Polym. Sci. 101, 101197 (2020).
- Wang X., Gao S., Wang J., Xu S., Li H., Chen K., Ouyang P.: Chin. J. Chem. Eng. 30, 4 (2021).
- Suvannasara P., Tateyama S., Miyasato A., Matsumura K., Shimoda T., Ito T., Yamagata Y., Fujita T., Takaya N., Kaneko T.: Macromolecules 47, 1586 (2014).
- Thiyagarajan S., Franciolus D., Bisselink R. J. M., Ewing T. A., Boeriu C. G., van Haveren J.: ACS Sustainable Chem. Eng. 8, 10626 (2020).
- Wojcieszak R., Santarelli F., Paul S., Dumeignil F., Cavani F., Gonçalves R. V.: Sustainable Chem. Processes 3, 9 (2015).
- Suzuki H., Abe T., Takaishi K., Narita M., Hamada F.: J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem. 38, 108 (2000).
- Lu Y., Hao J., Xiao G., Zhao H., Hu Z., Wang T.: Appl. Surf. Sci. 394, 78 (2017).
- Scodeller I., Mansouri S., Morvan D., Muller E., de Oliveira Vigier K., Wischert R., Jérôme F.: Angew. Chem., Int. Ed. 57, 10510 (2018).
- Zhang C., Xue J., Yang X., Ke Y., Ou R., Wang Y., Madbouly S. A., Wang Q.: Prog. Polym. Sci. 125, 101473 (2022).

**M. Šusterová and P. Sysel** (*Department of Polymers, University of Chemistry and Technology, Prague*): **Polyimides Based on Feedstocks from Renewable Sources**

Aromatic polyimides constitute a group of special polymers with excellent thermal and mechanical properties. However, they are insoluble and infusible due to strong intermolecular interactions. For this reason, approaches are sought that would lead to an improvement of these properties and open the possibility to extend the use of polyimides. The interest to protect the environment leads also to searching for an alternative, namely, recent feedstocks, which could replace the fossil ones. This work is focused on the use of potentially recent monomers for synthesis of polyimides and their properties.

Keywords: polyimides, recent feedstocks, alicyclic monomers, sustainable polymers

● Šusterová M., Sysel P.: Chem. Listy 116, 681–686 (2022).

● <https://doi.org/10.54779/chl20220681>

#### Acknowledgements

*This work was supported by the project of GA CR No. 20-06264S.*

## PŮVODNÍ A METODICKÉ PRÁCE

### STANOVENÍ REMDESIVIRU POMOCÍ VYSOKOÚČINNÉ KAPALINOVÉ CHROMATOGRRAFIE S TANDEMOVOU HMOTNOSTNÍ DETEKČÍ U PACIENTA S INFEKČÍ SARS-CoV-2

JAKUB PETRUS<sup>a</sup>, TOMÁŠ GRONDŽÁK<sup>a</sup>, JANA ČEPOVÁ<sup>a</sup>, KATEŘINA DUNOVSKÁ<sup>a</sup>, BOŽENA HOSNEDLOVÁ<sup>b</sup>, JAN BEROUŠEK<sup>c</sup>, RICHARD PRŮŠA<sup>a</sup>, RENÉ KIZEK<sup>a</sup> a EVA KLAPKOVÁ<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Ústav lékařské chemie a klinické biochemie, 2. LF a FN Motol, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5, <sup>b</sup> BIOCEV, 1. LF, Univerzita Karlova, Průmyslová 595, 252 50 Vestec, <sup>c</sup> Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny 2. LF UK a FN Motol, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5  
eva.klapkova@email.cz

Došlo 10.5.22, přijato 1.8.22.

**Klíčová slova:** antivirotika, remdesivir, kapalinová chromatografie, hmotnostní spektrometrie, LC-MS/MS

• <https://doi.org/10.54779/chl20220687>

#### Úvod

Jednovláknový RNA virus SARS-CoV-2 se přenáší kapénkovou cestou<sup>1</sup>. Po vstupu do dýchacího ústrojí se přes vazbu na ACE2 receptory dostává do buněk, kde se replikuje. U nemocných následně spouští imunitní reakci, která může vyvolat závažné komplikace průběhu onemocnění<sup>2</sup>. Kromě toho infekce virem SARS-CoV-2 může způsobovat komplikace nebo ovlivnit průběh léčby u jiných onemocnění<sup>3</sup>. Remdesivir je intravenózně podávané prolečivo<sup>4</sup>. Podává se první den v dávce 200 mg, poté 1× denně 100 mg. Jakožto analog ATP působí inhibiči virové RNA-dependentní RNA polymerasy<sup>5</sup>. Metabolizuje se na neaktivní nukleosidovou formu remdesiviru (GS-441524), která se po přibližně 2 hodinách od intravenózního podání stává dominantní formou v plazmě<sup>6</sup>. Samotný remdesivir je z 88 až 94 % vázán na plazmatické proteiny a jeho maximální koncentrace byla v plazmě zaznamenána na konci třicetiminutové infuzní aplikace<sup>5</sup> (tab. I). Klinický přínos remdesiviru je studován a byl prokázán v řadě studií<sup>7,8</sup>. V nejnovější studii však patnáctidenní podávání remdesiviru nezlepšilo klinické výsledky pacientů hospitalizovaných s COVID-19 ve srovnání se standardní péčí<sup>6</sup>. Jak

remdesivir, tak převažující metabolit GS-441524 se vylučují zejména ledvinami. U terapie remdesivirem byla pozorována hepatotoxicita i nefrotoxicita<sup>2,5</sup>, proto je nutné funkce těchto orgánů při terapii monitorovat. Analytickému stanovení remdesiviru není věnována dostatečná pozornost (jak je ukázáno v tab. I). Doposud publikované práce využívají především techniky kapalinové chromatografie ve spojení s hmotnostní detekcí<sup>9–11</sup>. Cílem této práce bylo studovat remdesivir pomocí kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí (LC-MS/MS) a následně zavést metodu na monitorování hladiny remdesiviru v séru nebo plazmě u pacientů s infekcí SARS-CoV-2.

#### Experimentální část

##### Použité chemikálie

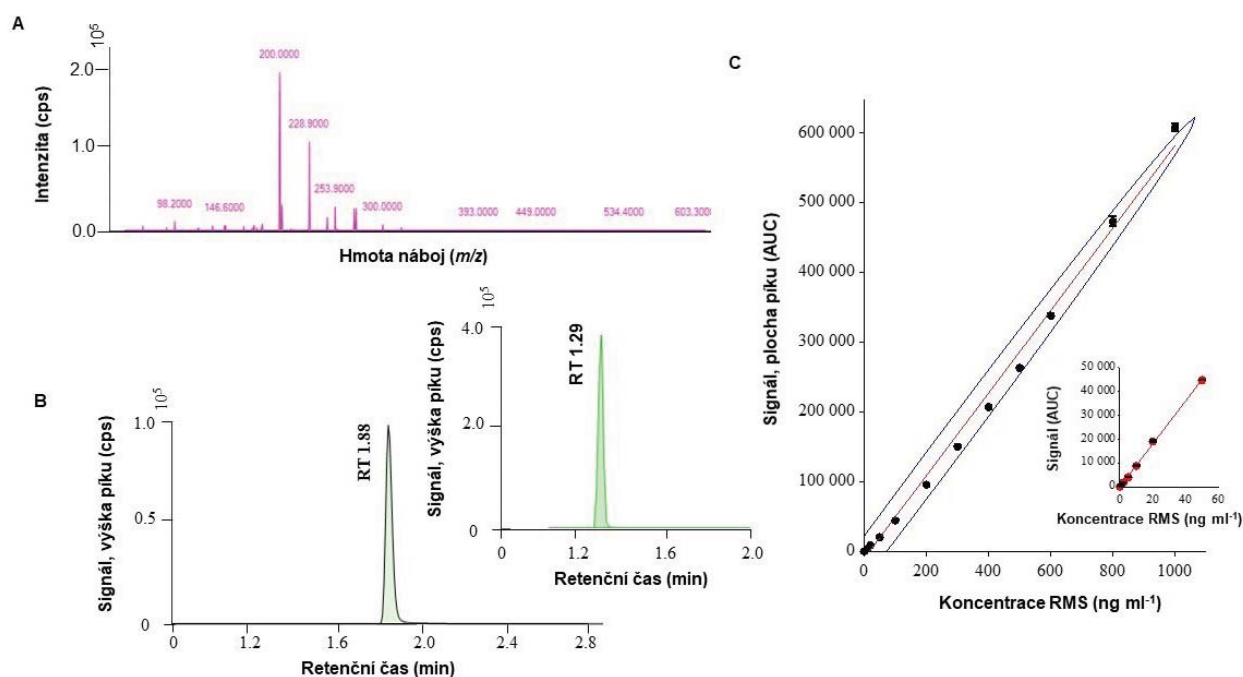
Pro přípravu mobilních fází byl použit acetonitril a kyselina mravenčí v LC-MS/MS čistotě (HPST, Česká republika). Ganciklovir-d5 a další použité chemikálie byly zakoupeny od HPST, Česká republika. Remdesivir byl získán jako dar od Dr. Milana Jakubka (BIOCEV, Česko).

##### Biologický materiál

Vzorky séra/plazmy byly získány ze zbytků séra/plazmy jako směs anonymních vzorků před jejich likvidací (FN Motol) a jejich použití je v souladu s vnitřními předpisy. Všechna vyšetření jsou v souladu se zásadami Helsinské deklarace. Pacientský vzorek byl získán ve spolupráci s Klinikou anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny 2. LF UK a FN Motol.

##### Příprava roztoků a vzorků

Zásobní roztok remdesiviru byl připraven v koncentraci 1 mg ml<sup>-1</sup> v methanolu. Kalibrační roztoky byly naředěny ze zásobního roztoku na koncentrace (0; 1,25; 2,5; 5; 10; 20; 50; 100; 200; 300; 400; 500; 600; 800; 1000 ng ml<sup>-1</sup>) do séra, plazmy a mobilní fáze a následně uchovány v lednici při 4 °C. Vzorek byl poté zpracován následovně: do zkumavek bylo přidáno 50 µl vzorku (kalibrátor, kontrola, patientský vzorek), 650 µl precipitačního činidla (acetonitril:methanol (50/50; v/v)) s ganciklovirem-d5 (vnitřní standard, koncentrace 5 ng/ml). Pro metodu standardního přídatku bylo 90 µl vzorku (po extrakci) smíšeno s 30 µl remdesiviru (100 ng ml<sup>-1</sup>). Vzniklá směs se extrahovala po dobu 10 min při 800 rpm (Biosan, Litva) a následně se centrifugovala (Eppendorf, Německo) 10 min při 13 tis. g. Odebraný supernatant se naředil v poměru 1:2 (acetonitril:voda (95:5)) s 0,1% kyselinou mravenčí a takto připravený vzorek byl analyzován.



Obr. 1. LC-MS/MS analýza remdesiviru. Spektrum v ESI<sup>+</sup> módu (40 keV) (A). Typický chromatografický signál kvantifikace remdesiviru (100 ng/ml) při MRM přechodu  $m/z$  603,2 → 200 na koloně Zorbax Eclipse Plus C18 RRHD 1,8  $\mu$ m 3,0 x 50 mm při chromatografických podmínkách A: 0,1% kyselina mravenčí ve vodě; B: 95% acetonitril, 4,9% voda, 0,1% kyselina mravenčí; v insertu obrázku je ukázán signál gancikloviru-d5 (5 ng ml<sup>-1</sup>) (B). Typická závislost na koncentraci 0 až 1000 ng ml<sup>-1</sup>, s konfidenční elipsou na hladině významnosti 95%,  $n = 5$ . Lineární část (0–50 ng ml<sup>-1</sup>),  $y = -29,3 + 900,5x$ ; (AUC; ng ml<sup>-1</sup>);  $r = 0,99923$ ; LOD 1,9 ng ml<sup>-1</sup>; LOQ 6,5 ng ml<sup>-1</sup>; QC 4,3 (C).

#### Příprava mobilní fáze pro LC-MS/MS analýzu

Protokol analýzy byl mírně upraven podle publikovaných studií<sup>9,10</sup>. Jako mobilní fáze A byla použita voda s 0,1% kyselinou mravenčí a jako mobilní fáze B byla použita směs acetonitril:voda (95:5) s 0,1% kyselinou mravenčí. Gradientová eluce byla následující: 100 % A → 100 % B (0–1,5 min), 100 % B (1,5–3 min), 100 % B → 100 % A (3–3,5 min).

#### Použité přístroje

##### LC-MS/MS analýza

Pro kvantifikaci remdesiviru jsme použili kapalinový chromatograf ve spojení s hmotnostním analyzátozem za použití ionizace v pozitivním módu (Agilent 1290, Triple Quad 6470, Agilent Technologies). Hmotnostní detekce byla prováděna pomocí trojitého kvadrupólu v módu MRM. Systém byl složen z binární pumpy (G7120A), termostatovaného dávkovače (G7129B), termostatu (G7129A), odplynovače (G7120C) a termostatu kolony (G7129D) (Agilent Technologies, USA). Použitá kolona byla Zorbax Eclipse Plus C18 RRHD 1,8  $\mu$ m 3,0 x 50 mm (Agilent Technologies, USA). Objem nástřiku připraveného vzorku byl 5  $\mu$ l, doba analýzy 4 min, průtok 0,4 ml min<sup>-1</sup>,

teplota kolony 35 °C, každý bod byl měřen pětkrát. Hmotnostní spektrometr byl typu trojitého kvadrupólového analyzátoru Qq QAgilent 6470 Triple Quad (Agilent Technologies, USA). Jako vyhodnocovací software byl použit program Mass Hunter Optimizer (Agilent Technologies, USA).

#### Statistické a matematické vyhodnocení

Všechna experimentální data byla analyzována v laboratorním informačním systému Qinslab. Hodnoty LOD a LOQ byly vypočítány podle práce Hubaux<sup>12</sup>.

## Výsledky a diskuse

### LC-MS/MS analýza remdesiviru

Pro analýzu remdesiviru bylo využito techniky LC-MS/MS s ionizací v ESI<sup>+</sup> módu. Optimální nastavení iontového zdroje bylo následující: napětí na kapiláře 3 kV, teplota sušícího plynu 350 °C, průtok sušícího plynu 11 l min<sup>-1</sup>, jako kolizní plyn byl použit dusík. Pro kvantifikaci remdesiviru byl vybrán jeden kvantifikační přechod a jeden konfirmační přechod  $m/z$  při 603,2 → 261,0



Tabulka I

Hladiny remdesiviru v plazmě/séru po jejich aplikaci, podle dostupných literárních dat

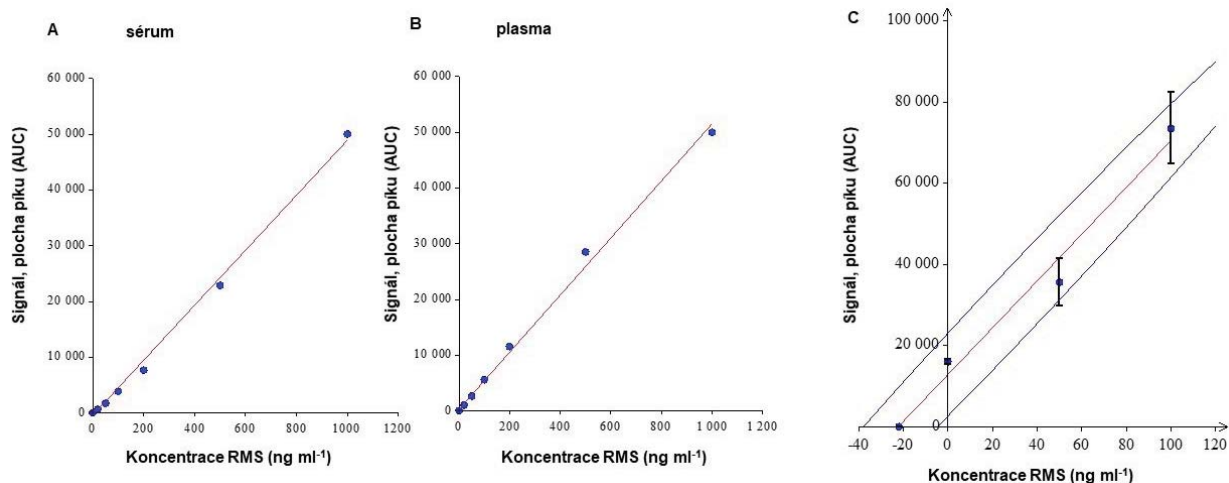
Druh studie	Terapeutické dávkování [mg den <sup>-1</sup> ]	Koncentrace remdesiviru v plazmě/séru						Počet pacientů <i>n</i>	Lit.	
		odběr [ng ml <sup>-1</sup> ]			extrémní hladina	eGFR 30-60 [ml min <sup>-1</sup> ]	eGFR 60 [ml min <sup>-1</sup> ]			poločas [h]
		4 h	18 h	není uvedeno						
Farmakologická studie	200, následně 100	662	32		1576			3,2	1	23
Farmakokinetika	200, následně 100				500	116	90		37	11
Analytické testování	100			6 až 20	4 až 20				17	10

eGFR – odhad glomerulární filtrace ze sérového kreatininu

(kvantifikační) a 603,2 → 200,0 (konfirmační); v případě použitého vnitřního standardu byl přechod  $m/z$  261,1 → 152,0. Celková doba analýzy byla 4 min. Získané retenční časy se pohybovaly okolo  $1,88 \pm 0,02$  min (obr. 1). Následně jsme navrženou analytickou metodu validovali dle pravidel FDA (Food and Drug Administration, FDA 2018)<sup>13</sup>. Mezi základní validační parametry bioanalytických metod patří mez detekce, mez kvantifikace, kalibrace, lineární rozsah metody, přesnost, pravdivost a robustnost. Tyto parametry dále zahrnují vyhodnocení matricového efektu, test stability analytu v biologické matrici za definovaných podmínek skladování a test stability kalibračního a vnitřního standardu v rozpouštědlech za definovaných podmínek skladování<sup>14</sup>. Jednotlivé kroky podobných analytických postupů jsou podrobně popsány v dříve publikovaných sděleních<sup>15–17</sup>.

#### Linearita

Pro kalibraci remdesiviru byla použita 15bodová kalibrace. Každý bod kalibrační křivky byl připraven v pěti opakováních. Pro analýzu byl navržen pracovní rozsah od 6,5 do 1000 ng ml<sup>-1</sup>. Výsledná kalibrační závislost v modelovém prostředí mobilní fáze byla lineární ( $y = 900,5x + 29,3$  (AUC; ng ml<sup>-1</sup>),  $r = 0,9992$ , QC 4,3), kde  $x$  představuje koncentraci remdesiviru a  $y$  představuje plochu piku remdesiviru. Podrobnosti jsou uvedeny na obr. 2 a v tab. II.



Obr. 2. Optimalizace stanovení remdesiviru v biologickém vzorku. Závislost signálu na koncentraci remdesiviru ve smíšeném séru (A) a ve smíšené plazmě (B). Vzorek pacienta léčeného remdesivirem (odběr 1 h po aplikaci remdesiviru), metoda standardního přidavku (0, 50 a 100 ng ml<sup>-1</sup>), (C). Všechna data vyhodnocena jako ESI<sup>+</sup> na fragment  $m/z$  200 na koloně Zorbax C18.

*Přesnost za podmínek opakovatelnosti a reprodukovatelnosti*

Byla provedena analýza přesnosti a správnosti při opakované analýze vybraných bodů (6,5 ng ml<sup>-1</sup>; 10 ng ml<sup>-1</sup>; 500 ng ml<sup>-1</sup>; 1000 ng ml<sup>-1</sup>) při počtu opakování  $n = 5$ . Následně při dlouhodobém hodnocení byla hodnocena

přesnost a správnost mezi jednotlivými dny. Data byla vyhodnocena v regulačním diagramu jako hodnoty variačního koeficientu (CV%). Podrobnosti jsou uvedeny v tab. II.

## Tabulka II

Validační parametry pro stanovení remdesiviru metodou LC-MS/MS. Další podrobnosti jsou uvedeny v sekci Experimentální část.

	Validační parametry pro LC-MS/MS stanovení		
	mobilní fáze (ACN; voda)	sérum	plasma
Parametr, matematický model – lineární; pracovní koncentrace (6,5–1000 ng ml <sup>-1</sup> )			
$y = ax + b$ (AUC; ng ml <sup>-1</sup> )	900,5x + 29,3	34,0x + 40,4	52,8x + 39,0
Směrnice; ng ml <sup>-1</sup>	900,5	34,1	52,8
Korelační koeficient, r	0,9992	0,9995	0,9995
QC, 95 %	4,3	4,1	4,2
LOD, ng ml <sup>-1</sup>	1,9	2,1	2,0
LOQ, ng ml <sup>-1</sup>	6,5	6,9	6,8
Opakovatelnost <sup>a</sup>			
CV, %	0,6	3,9	1,3
Počet opakování ( $n$ )	9	10	10
Normální rozdělení <sup>d</sup>	5,8; potvrzeno normální rozložení	2,2; potvrzeno normální rozložení	3,1; potvrzeno normální rozložení
Interval spolehlivosti <sup>e</sup> , ng ml <sup>-1</sup>	±1245,0	±162,9	±33,8
Reprodukovatelnost <sup>b</sup>			
CV, %	1,26	3,60	2,90
Počet opakování ( $n$ )	18	20	20
Normální rozdělení <sup>d</sup>	2,2; potvrzeno normální rozložení	3,1; potvrzeno normální rozložení	2,9; potvrzeno normální rozložení
Interval spolehlivosti <sup>e</sup> , ng ml <sup>-1</sup>	± 8615,9	± 97,6	± 49,9
Opakovatelnost nástřiku			
Retenční čas, CV, %	0,5	0,2	0,2
Plocha píku, CV, %	1,1	3,2	1,8
Výtěžnost, % <sup>c</sup>	100	81,9	67,9

<sup>a</sup> Opakovatelnost byla určena jako průměrný CV % na 4 koncentračních hladinách (počet měření = 10), <sup>b</sup> reprodukovatelnost byla určena jako průměrný CV % na 4 koncentračních hladinách změřených 3 dny po sobě (počet měření = 10), <sup>c</sup> výtěžnost byla určena jako ((získaná hodnota měřené látky/referenční hodnota měřené látky) \* 100) na 3 koncentračních hladinách, <sup>d</sup> Normalita rozložení dat byla hodnocena: průměr/medián. Hraniční hodnoty přibližně mezi 0,9–1,1, <sup>e</sup> Interval spolehlivosti na konfidenční hladině 95 % pro normálně rozdělený soubor. Odlehlost hodnot byla testována Grubbsovým testem na hladině významnosti 5 %. AUC: integrální výpočet obsahu plochy pod křivkou

*Opakovatelnost měřených signálů (intenzity, plochy a retenčního času)*

Relativní chyby byly vypočítány z opakovaného dávkování analytů ve vzorcích séra a plazmy s přidávkou remdesiviru pro koncentrace 6,5 ng ml<sup>-1</sup>; 10 ng ml<sup>-1</sup>; 500 ng ml<sup>-1</sup>; 1000 ng ml<sup>-1</sup>. Variační koeficienty se pohybovaly od 1,1 do 3,2 %. Podrobnosti jsou uvedeny v tab. II.

*Stanovení meze detekce (LOD) a meze kvantifikace (LOQ)*

Podle FDA<sup>13</sup> a ISO<sup>12</sup> metodiky byly vypočteny hodnoty LOD 1,9 ng ml<sup>-1</sup> a LOQ 6,5 ng ml<sup>-1</sup> s CV 5 % (pracovní rozsah 6,5 až 1000 ng ml<sup>-1</sup>). Získané limity jsou dostatečné pro kvantifikaci remdesiviru v biologickém vzorku (tab. II).

*Výtěžnost metody stanovení remdesiviru*

Výtěžnost metody byla určena pro různé koncentrační hladiny (6,5; 500; 1000 ng ml<sup>-1</sup>). Výtěžnost byla vypočítána porovnáním signálů v extrahovaném vzorku séra nebo plazmy s přidávkou definované koncentrace roztoku remdesiviru po extrakci. Při použití ionizace elektrospřem ve spojení LC-MS v komplexní biologické matici se objevuje matricový efekt. Tento efekt, jak je známo, ovlivňuje kvalitu i kvantitu stanovení. Podrobnosti jsou uvedeny v tab. II.

*Stanovení remdesiviru v séru a plazmě*

Výsledná kalibrační závislost v séru byla lineární ( $y = 34,0x + 40,4$ ; (AUC; ng ml<sup>-1</sup>),  $r = 0,9995$ , v rozsahu 6,5 až 1000 ng ml<sup>-1</sup>, QC 4,1). Výsledná kalibrační závislost v plazmě byla lineární ( $y = 52,8x + 39,0$ ; (AUC; ng ml<sup>-1</sup>),  $r = 0,9995$ , v rozsahu 6,5 až 1000 ng ml<sup>-1</sup>, QC 4,2).

*Stanovení remdesiviru v séru pacienta léčeného tímto lékem*

Po získání závislostí signálu remdesiviru na koncentraci byla testována detekce remdesiviru v reálném pacientském vzorku. Na určení koncentrace remdesiviru ve vzorku byla použita jak metoda standardního přídávku, tak metoda vnitřního standardu (rozdíl určených koncentrací remdesiviru mezi metodami do 5 %). Využitý postup umožnil úspěšně extrahovat a stanovit remdesivir v reálném pacientském séru, kdy byl pozorován signál při retenčním čase 1,88 min při hmotě  $m/z$  200. Následně byla koncentrace remdesiviru (metodou standardního přídávku) v séru určena na  $175 \pm 15$  ng ml<sup>-1</sup>.

**Závěr**

I přes používání remdesiviru k léčbě eboly a SARS není k dispozici mnoho údajů o jeho stanovení v séru/plazmě, jak je uvedeno v tab. I. Metoda LC-MS/MS analyzy je pro tento účel vhodná pro svou citlivost a selektivitu. Pro pečlivější sledování farmakokinetiky remdesiviru je potřebné identifikovat metabolit GS-441524 a trifosfát remdesiviru. Kromě necíleného podávání proléčiva je výzvou jeho zacílení pomocí specifických nanotransportérů<sup>18–21</sup>. Takové modifikace umožní zvýšení terapeutické koncentrace

v místě infekce a sníží nežádoucí efekty a budou vyžadovat vhodné analytické přístupy pro monitorování terapeutické koncentrace<sup>22</sup>.

*Práce byla podpořena projektem MZ ČR – RVO, FN v Motole 00064203. Děkujeme Dr. Milanovi Jakubkovi za poskytnutí remdesiviru a doc. Tomáši Vymazalovi z Kliniky anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny 2. LF UK a FN Motol za poskytnutí pacientského vzorku.*

**LITERATURA**

- Chen Z. a 15 spoluautorů: Nat. Genet. 54, 499 (2022).
- Harrison A. G., Lin T., Wang P. H.: Trend. Immunol. 41, 1100 (2020).
- Petrus J., Dunovska K., Klappkova E., Hosnadlova B., Jakubek M., Cepova J., Prusa R., Kizek R.: Prakt. Léč. 102, 6 (2022).
- Beigel J. H. a 41 spoluautorů: N. Engl. J. Med. 383, 1813 (2020).
- EMA: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/veklury-epar-product-information\\_cs.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/veklury-epar-product-information_cs.pdf) 1 (2020). Staženo 1. 2. 2022.
- Ader F. a 73 spoluautorů: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2022.03.30.22273206v2>. Staženo 5. 10. 2022.
- Williamson B. N. a 21 spoluautorů: Nature 585, 273 (2020).
- Wang M. L., Cao R. Y., Zhang L. K., Yang X. L., Liu J., Xu M. Y., Shi Z. L., Hu Z. H., Zhong W., Xiao G. F.: Cell Res. 30, 269 (2020).
- Du P., Wang G. Y., Yang S., Li P. F., Liu L. H.: Anal. Bioanal. Chem. 413, 5811 (2021).
- Reckers A., Wu A. H. B., Ong C. M., Gandhi M., Metcalfe J., Gerona R.: J. Antimicrob. Chemother. 76, 1865 (2021).
- Sukeishi A. a 16 spoluautorů: Cpt-Pharmacometr. System. Pharmacol. 11, 94 (2022).
- Hubaux A., Vos G.: Anal. Chem. 42, 849 (1970).
- FDA-2013-D-1020; Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry; Center for Drug Evaluation and Research Center for Veterinary Medicine. 1 (2018).
- Matuszewski B. K., Constanzer M. L., Chavez-Eng C. M.: Anal. Chem. 75, 3019 (2003).
- Mocak J., Eckschlager K.: Chem. Listy 81, 1 (1987).
- Mocak J., Eckschlager K.: Chem. Listy 81, 126 (1987).
- Valachovicova M., Pribojova J., Mislanova C.: Chem. Listy 115, 138 (2021).
- Carvalho A. P. A., Conte-Junior C. A.: Glob. Chal. 5, 2000115 (2021).
- Fabiani L. a 14 spoluautorů: Bios. Bioelectron. 171, 112686 (2021).
- Vadlamani B. S., Uppal T., Verma S. C., Misra M.: Sensors 20, 5871 (2020).
- Vartak R., Patil S. M., Saraswat A., Patki M., Kunda

- N. K., Patel K.: *Nanomedicine* 16, 1187 (2021).  
 22. Wu J. P., Wang H. M., Li B. Y.: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 22, 28434 (2020).  
 23. Ide S. a 30 spoluautorů: *IDCases* 26, 1 e01343 (2021).

**J. Petrus<sup>a</sup>, T. Grondžák<sup>a</sup>, J. Čepová<sup>a</sup>, K. Dunovská<sup>a</sup>, B. Hosnedlová<sup>b</sup>, J. Beroušek<sup>c</sup>, R. Průša<sup>a</sup>, R. Kizek<sup>a</sup>, and E. Klapková<sup>a</sup>** (<sup>a</sup> *Department of Medical Chemistry and Clinical Biochemistry, Charles University, Second Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Prague*, <sup>b</sup> *BIOCEV, First Faculty of Medicine, Charles University, Vestec*, <sup>c</sup> *Department of Anaesthesiology and ICM, Charles University, Second Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Prague 5, Czech Republic*):  
**Detection of Remdesivir by Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry in a Patient with SARS-CoV-2 Infection**

One of the officially approved medications for the treatment of the pandemic disease COVID-19, caused by the SARS-CoV-2 virus, is remdesivir. This antiviral molecule is a prodrug that is metabolized into its active form (an ATP analogue). Because of its hepatotoxicity and nephrotoxicity, it is necessary to monitor the serum concentrations of remdesivir. For the therapeutic drug monitoring of remdesivir, a method using liquid chromatography with

tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) in positive electrospray ionization mode was developed. Mass detection was done via triple quadrupole in the Multiple reaction monitoring mode. Separation was done on Zorbax C18 column at 35 °C in mobile phase gradient and flow 0.4 mL min<sup>-1</sup> (A – 0.1% formic acid in water, B – 0.1% formic acid in 95% acetonitrile). Time of analysis was 4 minutes. LC-MS/MS method was successfully validated. Calibration was done in blood serum and plasma and it was linear in the range of tested concentrations (0–1000 ng mL<sup>-1</sup>). Samples were prepared by protein precipitation. The method was used to measure remdesivir concentration in a patient with SARS-CoV-2 infection. The measured concentration 60 minutes after remdesivir application was 175±15 ng mL<sup>-1</sup>.

Keywords: antivirals, remdesivir, liquid chromatography, mass spectrometry, LC-MS/MS

- Petrus J., Grondžák T., Čepová J., Dunovská K., Hosnedlová B., Beroušek J., Průša R., Kizek R., Klapková E.: *Chem. Listy* 116, 687–692 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220687>

*Acknowledgements*

*The project is being implemented under the grant project MZ ČR – RVO, FN Motol 00064203.*

## APLIKACE METODY LAMP PRO DETEKCI NEŽÁDOUCÍCH BAKTERIÍ V SYROVÁTCE

EVA ŠVIRÁKOVÁ<sup>a</sup>, KATEŘINA LOUPANCOVÁ<sup>a</sup>  
a IRENA NĚMEČKOVÁ<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 3/5, 166 28 Praha 6,

<sup>b</sup> Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Ke Dvoru 12a, 160 00 Praha 6

eva.svirakova@vscht.cz

Došlo 15.8.22, přijato 3.10.22.

Klíčová slova: metoda LAMP, detekce bakterií, nežádoucí bakterie, syrovátka

• <https://doi.org/10.54779/chl20220693>

### Úvod

Metoda LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification), překládaná do jazyka českého jako „izotermální amplifikace zprostředkovaná smyčkou“, patří mezi molekulárně biologické metody využívané pro amplifikaci specifických sekvencí nukleových kyselin (DNA nebo RNA), zejména v souvislosti s detekcí patogenů. Tato metoda disponuje širokou škálou možných aplikací, včetně testování *in vitro* v místech péče o pacienty (tzv. point-of-care testing), genetického testování v prostředí s nedostatkem zdrojů (například v rozvojových zemích) a rychlého testování potravinářských výrobků a vzorků životního prostředí<sup>1</sup>. Metoda LAMP našla své využití primárně v oblasti klinické laboratorní praxe, kde je v současnosti běžně využívána jako spolehlivá a robustní metoda pro detekci a identifikaci mikrobiálních a virových patogenů<sup>2</sup>. Na trhu jsou k dispozici různé komerčně dostupné kity pro metodu LAMP, designované pro detekci patogenních nebo podmíněných patogenních bakterií, nejčastěji ze vzorků krve. Z široké nabídky kitů je možné zmínit např. kit Eazyplex<sup>®</sup> BloodScreen GP Assay (AmplexDiagnostic GmbH, DEU)<sup>3</sup>, jenž je navržený pro detekci následujících grampozitivních patogenních či podmíněně patogenních bakterií: *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus* sp., *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus* sp., vancomycin rezistentní enterokoky (VRE) s geny *vanA* a *vanB*. Další kit, Eazyplex<sup>®</sup> BloodScreen GN Assay (AmplexDiagnostic GmbH, DEU)<sup>3</sup>, je navržený pro detekci následujících gramnegativních patogenních a podmíněně patogenních bakterií: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*/

*Pseudomonas fluorescens*/*Pseudomonas putida*, bakterii čeledi *Enterobacteriaceae*, a také pro detekci bakterií s geny pro produkci  $\beta$ -laktamasy CTX-M-1 a  $\beta$ -laktamasy CTX-M-9. Metoda LAMP začíná postupně nalézat uplatnění i v potravinářské laboratorní praxi. Prozatím je využívána spíše na půdách vědecko-výzkumných a akademických pracovišť než v komerčním sektoru. Z pragmatické nutnosti je cíleno nejčastěji na detekci patogenů způsobujících alimentární onemocnění (jakými jsou např. *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*) ohrožující veřejné zdraví, způsobující vážná onemocnění až úmrtí přenášena potravinami a vodou<sup>4</sup>. Vzhledem k tomu, že se v potravinách tyto patogeny nenacházejí ve velkých množstvích, jsou zapotřebí detekční metody schopné detekovat i jejich menší množství<sup>5</sup>. Metody detekce potravinových patogenů založené na kultivačních metodách jsou časově náročné a pracné<sup>6</sup>. Přestože je použití metody PCR (Polymerase Chain Reaction, polymerázové řetězové reakce) pro detekci potravinových patogenů v současnosti standardně rozšířené, metoda LAMP ji může při zvážení některých aspektů vhodně nahradit<sup>7</sup>. Metoda LAMP tedy představuje alternativní metodu významně urychlující a zjednodušující detekci alimentárních patogenů v praxi<sup>8</sup>. Na trh začaly pronikat různé komerční kity pro metodu LAMP navržené pro detekci potravinových patogenů. Např. vybrané kity řady Loopamp Detection Kit (Eiken Chemical Co., JPN)<sup>9</sup> jsou vhodné pro detekci patogenních bakterií a virů v potravinových surovinách a výrobcích a cílí na detekci následujících bakterií a virů: *Salmonella* spp., verotoxin-produkující *E. coli* (VTEC), *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *Campylobacter* spp., norovirus, *Alicyclobacillus acidoterrestris* (AAT), *Flavobacterium psychrophilum*. Výhodou kitů pro metodu LAMP je jejich snadná uživatelská aplikovatelnost. Kity obsahují veškeré reagenty potřebné pro uskutečnění reakce LAMP, která probíhá v jedné zkumavce, za podmínky celkového času detekce bakterií nejdéle do 1 h, a to od přípravy vzorku až po dokončení amplifikace LAMP. Za významnou výhodu metody LAMP se tedy považuje úspora času pro detekci bakterií za 15–60 min (cit.<sup>10</sup>), a to při srovnání času jejich detekce s využitím jiných molekulárně biologických metod (např. u metody PCR se doba detekce pohybuje v rozmezí 60–120 min) nebo metod klasické mikrobiologie (např. u plotnové metody s využitím selektivních médií se doba detekce pohybuje v rozmezí 24–48 h). Pokud dojde k transferu metody LAMP z klinické oblasti do oblasti potravinářství, významně se rozšíří její pole využitelnosti. Nezbytností je však design nových pracovních postupů/metod a jejich bezproblémová experimentální realizace. Aplikace metody LAMP pro rychlou detekci nežádoucích bakterií může být perspektivní v různých oblastech potravinářského průmyslu, avšak doposud je toto uplatnění málo probádané. Cílem této práce je ověřit možnost detekce grampozitivních a gramnegativních bakterií se statutem zdravotně a technologicky nežádoucích bakterií v tekuté sladké syrovátce, s využitím molekulárně biologické metody LAMP za podmínek *in vitro* v laboratoři.

## Experimentální část

### Použité bakteriální kmeny

K experimentům bylo použito celkem 12 bakteriálních kmenů, z nichž tři představovaly zástupce gram-pozitivních bakterií (GP) (*Enterococcus* spp., *Streptococcus* sp.) a 9 představovalo zástupce gramnegativních (GN) bakterií (*E. coli*, *Kl. pneumoniae*, *Ps. aeruginosa*). Sbírkové kmeny (CCM) byly získány z České sbírky mikroorganismů (CCM, Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity, Brno). Další kmeny (LEV) byly izolovány z prostředí české průmyslové výroby sýrů a následně identifikovány na úroveň druhu metodou hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF MS ve VÚVeL v. v. i. (Brno). Kmeny jsou umístěny ve Sběrce mikroorganismů (Ústav konzervace potravin, VŠCHT v Praze). Specifikace použitých kmenů jsou uvedeny v tab. I.

### Kultivace bakteriálních kmenů

Kmeny byly zaočkovány (inokulum 1,0 obj.%) do sterilního bujónu z mozkosrdcové infuze (Brain Heart Infusion Broth, Merck KGaA, DEU) (dále jen bujón BHI) (10 ml), a poté kultivovány za aerobních podmínek při teplotě 37 °C po dobu 24 h.

### Stanovení počtu bakterií

Pro stanovení počtu bakterií byla použita plotnová metoda<sup>11</sup>. Aerobní kultivace bakterií probíhaly na agaru BHI (inokulum 1,0 ml, přeliv) při teplotě 37 °C po dobu 72 h. Narostlé kolonie byly spočítány užitím počítače kolonií Stuart SC-6 (P-LAB a.s., CZE).

### Příprava rekonstituované sladké syrovátky

Rekonstituovaná sladká syrovátka byla připravena smícháním sušené demineralizované syrovátky (Mogador s.r.o., CZE) (10,0 g) a destilované vody (90,0 g). Směs byla homogenizována v mixeru DI 25 Basic (IMLAB, FRA), pasterována v autoklávu PS 20A (Chirana Group, CZE) při teplotě 98 °C po dobu 20 min (v režimu proudící páry).

### Příprava vzorků pro metodu LAMP

Testované kmeny byly aerobně kultivovány v bujónu BHI (10 ml) (inokulum 1,0 obj.%), při teplotě 37 °C, do dosažení požadované exponenciální fáze jejich růstu. Ta byla zjišťována s využitím laboratorního spektrofotometru ONDA VIS V-10 Plus (Giorgio Bormac, ITA). Konkrétně byla měřena optická hustota buněčných suspenzí při 600 nm (OD<sub>600</sub>) a jako limit pro dosažení exponenciální

Tabulka I

### Použité bakteriální kmeny

Bakteriální kmen	Původ kmene
<i>Enterococcus faecalis</i> CCM 7247	Potravinový izolát: sýr brynzá (SVK)
<i>Enterococcus faecium</i> CCM 2308	Potravinový izolát: sýr (FRA)
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i> CCM 4685	Klinický izolát: puchýř kůže (onemocnění: epidermolysis bullosa)
<i>Escherichia coli</i> CCM 7395	Potravinový izolát (neznámý původ)
<i>Escherichia coli</i> LEV 682/17	Izolát ze solovny: kanál, pulzotyp EC-Xba-14 (CZE)
<i>Escherichia coli</i> LEV 687/17	Izolát ze solovny: stěna solné lázně, šum (bílorůžový), pulzotyp EC-Xba-7 (CZE)
<i>Escherichia coli</i> LEV 1456/17	Izolát ze solovny: solný roztok, pulzotyp EC-Xba-19 (CZE)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i> CCM 8843	Potravinový izolát: mlékárenské výrobky z kravského mléka (neznámý původ)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> LEV 700/17	Izolát ze solovny: stěna solné lázně, šum (růžový), pulzotyp KP-Xba-90 (CZE)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> LEV 1009/17	Izolát ze solovny: solný roztok, pulzotyp KP-Xba-91 (CZE)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> LEV 1022/17	Izolát ze solovny: solný roztok (CZE)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CCM 7930	Izolát z láhve na vodu: místnost pro zvířata (USA)

fáze růstu bylo bráno překročení hodnoty 0,300.

Kmeny byly poté pipetovány (1,0 ml) do pasterované syrovátky (9,0 ml). Alikvot každého vzorku syrovátky (5  $\mu$ l) ve čtyřech paralelách byl pipetován do Eppendorfových zkumavek s roztokem pro resuspendaci a lýzi buněk (500  $\mu$ l). Jednalo se o roztok RALF (AmplexDiagnostic GmbH, DEU). Obsahy zkumavek byly zahřáty v termobloku pro LAMP (Genie<sup>®</sup> HotBlock MiniT-30; Hangzhou Allsheng Instruments CO., LTD, CHN) na teplotu 99 °C s výdrží 2 min. Směs byla následně odstředěna na laboratorní odstředivce Mikro 200 R (Andreas Hettich GmbH & Co. KG, DEU) při 1700  $\times$  g, po dobu 30 s. Alikvot (25  $\mu$ l) supernatantů ve čtyřech paralelách byl pipetován do mikrozkušavek (které byly spojeny do stripu) kity pro LAMP. Byly použity kity: Eazyplex<sup>®</sup> BloodScreen GP Assay (dále jen Eazyplex<sup>®</sup> GP) a kit Eazyplex<sup>®</sup> BloodScreen GN Assay (dále jen Eazyplex<sup>®</sup> GN) (oba: AmplexDiagnostic GmbH, DEU) obsahující lyofilizované reagenty. Následovala vlastní analýza LAMP. Postup přípravy vzorků byl navržen a pilotně testován pro použití s tekutou sladkou syrovátkou, a to na základě individuálních konzultací se specialistou firmy AmplexDiagnostics GmbH (DEU).

Vlastní analýza LAMP – detekce bakterií v syrovátce

Mikrozkušavky se vzorky (ve stripu) kity Eazyplex<sup>®</sup> GP/GN (viz část „Příprava vzorků pro metodu LAMP“) byly vloženy do reakčního termobloku pro LAMP (Genie<sup>®</sup> II; AmplexDiagnostic GmbH, DEU), kde probíhala vlastní analýza – tj. amplifikační reakce LAMP – při teplotě 65 °C po dobu 20 min s využitím fluorimetrické detekce amplikonů v reálném čase. Při experimentech bylo postupováno podle návodu výrobce reakčního termobloku Genie<sup>®</sup> II.

Vyhodnocení výsledků analýzy LAMP

Metoda LAMP může poskytnout jak kvalitativní výsledky (bakterie přítomny +, bakterie nepřítomny–), tak kvantitativní výsledky (např. KTJ·ml<sup>-1</sup>, resp. v KTJ·LAMP reakce<sup>-1</sup>). Přestože poskytuje vysoce spolehlivé výsledky rychle a v profilu jednoduché experimentální realizovatelnosti, životaschopnost bakterií určit nedokáže, jelikož je designovaná na amplifikaci specifických sekvencí nukleových kyselin (DNA nebo RNA). V případě pozitivního záchytu bakterií (tj. bakterie přítomny +) bylo provedeno mikrobiologické kultivační stanovení s využitím plotnové metody<sup>11</sup>, tzn., byla zjištěna životaschopnost sledovaných bakterií.

Specifita kitů Eazyplex<sup>®</sup> GP/GN pro metodu LAMP

Vlastní analýze LAMP, tj. detekci GP/GN bakterií v syrovátce, předcházelo testování specifity kitů Eazyplex<sup>®</sup> GP/GN pro metodu LAMP, a to na úroveň detekovaného bakteriálního druhu. K tomu byly použity 24 h staré buňky tří sbírkových GP bakterií a tří sbírkových GN bakterií. Bakterie byly pipetovány (1,0 ml) do pasterované

syrovátky (9,0 ml) v exponenciální fázi jejich růstu (OD<sub>600</sub> vyšší než 0,300). Vzorky byly připraveny dle postupu výše (viz část Příprava vzorků pro metodu LAMP), a poté proměřeny pro každý kit Eazyplex<sup>®</sup> GP/GN během dvou stanovení LAMP ve dvou paralelách. Amplifikační reakce LAMP probíhaly v reakčním termobloku Genie<sup>®</sup> II. Specifita pro jednotlivé GP/GN bakterie byla potvrzena amplifikací specifického genu pro konkrétní bakteriální druh, projevující se vznikem amplikonů, zaznamenaných softwarem přístroje Genie<sup>®</sup> II. Průměrné počty bakterií detekované kity pro GP/GN bakterie se pohybovaly v rozmezí řádů 10<sup>8</sup>–10<sup>9</sup> KTJ·ml<sup>-1</sup>.

## Výsledky a diskuse

### Specifita metody LAMP

V tabulce II jsou uvedeny výsledky testu specifity pro metodu LAMP s využitím kity Eazyplex<sup>®</sup> GP pro detekci tří sbírkových GP bakterií. V tabulce III jsou uvedeny výsledky testu specifity pro metodu LAMP s využitím kity Eazyplex<sup>®</sup> GN pro detekci tří sbírkových GN bakterií.

Na základě výsledků uvedených v tab. II a III bylo konstatováno, že specificky navržené master mixy obsahující specifické primery, a také individuálně navržené postupy příprav vzorků pro analýzu LAMP, poskytly 100% specifitu pro danou skupinu vyšetřovaných GP a GN bakterií. Z analýz LAMP vyplynulo, že testované GP a GN bakterie obsahovaly specifické geny, pro které byly navrženy konkrétní specifické primery (obsažené v master mixech). Stran GP bakterií se konkrétně jednalo o geny kódující protein EF0027 pro regulaci transkripce u *Ent. faecalis*<sup>12</sup>, gen *tufA* pro *Enterococcus* sp.<sup>13</sup> a gen *tuf* pro *Streptococcus* sp.<sup>14</sup>. Geny *tuf* kódují elongační faktor Tu, který představuje protein vázající nukleotid guanosintrifosfát (GTP), který hraje ústřední roli při syntéze proteinů u bakterií<sup>13</sup>. Stran GN bakterií se konkrétně jednalo o gen *yfiL* kódující lipoproteinový signální peptid YfiL u *E. coli*<sup>15</sup>, gen *phoE* kódující fosforin PhoE lokalizovaný ve vnější membráně u *Kl. pneumoniae*<sup>16</sup>, gen *oprL* kódující peptidoglykanový prekurzor lipoproteinu OprL u *Ps. aeruginosa*<sup>17</sup> a geny kódující úsek 16S rRNA u bakterií čeledi *Enterobacteriaceae*<sup>18</sup>.

Aplikace metody LAMP pro detekci nežádoucích bakterií v syrovátce

Z důvodu zjištění vhodnosti metody LAMP pro aplikaci do mlékárenské laboratorní praxe, a také pro posouzení vhodnosti komerčních kitů Eazyplex<sup>®</sup> GP/GN, byla uskutečněna evaluace této metody. Konkrétně byla provedena detekce nežádoucích GP a GN bakterií v tekuté sladké syrovátce. Výsledky experimentů jsou uvedeny v tab. IV pro GP bakterie a také v tab. V pro GN bakterie.

Z výsledků uvedených v tab. IV je patrné, že u všech tří GP bakterií (*Ent. faecium*, *Ent. faecalis*, *Strep. dysgalactiae*) došlo k jejich detekci v syrovátce ze 100 %, a to s využitím kity Eazyplex<sup>®</sup> GP. Z tab. V vyplývá, že

Tabulka II

Test specifity pro metodu LAMP s využitím kitu Eazyplex<sup>®</sup> BloodScreen GP Assay (AmplexDiagnostic GmbH, DEU) pro detekci grampozitivních bakterií (GP)

Bakteriální kmen	Analyty detekované kitem Eazyplex <sup>®</sup> GP												Kontrola inhibice reakce	
	VRE <i>vanA</i>		VRE <i>vanB</i>		<i>Enterococcus faecalis</i>		<i>Enterococcus</i> sp.		<i>Streptococcus pneumoniae</i>		<i>Streptococcus</i> sp.			
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
<i>Ent. faecalis</i> CCM 7247	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	P	P
<i>Ent. faecium</i> CCM 2308	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	P	P
<i>Strep. dysgalactiae</i> CCM 4685	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	P	P
Slepý pokus (syrovátka)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P	P

+ / -... pozitivní/negativní reakce, P... platná, VRE... vankomycin-rezistentní enterokoky, *vanA* a *vanB*... geny zodpovědné za rezistenci enterokoků k vankomycinu

Tabulka III

Test specifity pro metodu LAMP s využitím kitu Eazyplex<sup>®</sup> BloodScreen GN Assay (AmplexDiagnostic GmbH, DEU) pro detekci gramnegativních bakterií (GN)

Bakteriální kmen	Analyty detekované kitem Eazyplex <sup>®</sup> GN										Kontrola inhibice reakce			
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Ps. aeruginosa/ Ps. fluorescens/ Ps. putida</i>		<i>Enterobacteria- cee</i>		CTX-M-1				CTX-M-9	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
<i>E. coli</i> CCM 7395	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	P	P
<i>Kl. pneumoniae</i> CCM 8843	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	P	P
<i>Ps. aeruginosa</i> CCM 7930	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	P	P
Slepý pokus (syrovátka)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P	P

+ / -... pozitivní/negativní reakce, P... platná, CTX-M-1... bakterie s geny produkce β-laktamasy CTX-M-1, CTX-M-9... bakterie s geny produkce β-laktamasy CTX-M-9

u všech 9 GN bakterií (*E. coli*, *Kl. pneumoniae*, *Ps. aeruginosa*) došlo k jejich detekci v syrovátce také ze 100 %, a to s využitím kitu Eazyplex<sup>®</sup> GN. Na základě těchto zjištění lze metodu LAMP a kity Eazyplex<sup>®</sup> GP/GN označit za slibné pro detekci výše uvedených bakterií v tekuté sladké syrovátce. Tekutá sladká syrovátka byla pro aplikační experimenty s využitím metody LAMP zvolena záměrně, a to z několika důvodů. Především díky tomu, že šlo o tekuté médium simulující reálný potravinový systém, na

ktej se daly aplikovat kity Eazyplex<sup>®</sup> GP/GN originálně navržené pro vyšetření vzorků tekuté lidské krve, vč. zjištění možnosti transferu metody LAMP z klinické laboratorní praxe do mlékárenské laboratorní praxe. Dalším důvodem byl fakt, že tekutá sladká syrovátka, jako hlavní vedlejší produkt při výrobě sladkých (tj. syřidlem srážených) sýrů, bývá často sekundárně kontaminována nejrůznějšími zdravotně nebezpečnými a technologicky rizikovými bakteriemi, mezi které se řadí např. enterokoky, strep-



Tabulka IV

Detekce grampozitivních bakterií (GP) v tekuté syrovátce s využitím metody LAMP a kitu Eazyplex<sup>®</sup> BloodScreen GP Assay (AmplexDiagnostic GmbH, DEU)

Bakteriální kmen	Analyty detekovatelné kitem Eazyplex <sup>®</sup> GP																				Kontrola inhibice reakce								
	VRE <i>vanA</i>				VRE <i>vanB</i>				<i>Enterococcus faecalis</i>				<i>Enterococcus</i> sp.				<i>Streptococcus pneumoniae</i> sp.												
	Paralela stanovení																												
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4					
<i>Ent. faecalis</i> CCM 7247	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	P	P	P	P
<i>Ent. faecium</i> CCM 2328	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	P	P	P	P
<i>Strep. dysgalactiae</i> CCM 4685	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	P	P	P	P
Slepý pokus (syrovátka)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P	P	P	P

+ / -... pozitivní/negativní reakce, P... platná, VRE... vankomycin-rezistentní enterokoky, *vanA* a *vanB*... geny rezistence enterokoků k vankomycinu

tokoky, pseudomonády, klebsiely, bakterie *E. coli* a jiné bakterie čeledi *Enterobacteriaceae*. Pro některé způsoby využití syrovátky vyžadující vysokou mikrobiologickou kvalitu (např. pro výrobu potravin/nápojů na bázi syrovátky, biotechnologické zpracování) je zapotřebí mikrobiologicky co nejkvalitnější syrovátka, prostá podmíněně patogenních bakterií a bakterií způsobujících kažení. Při použití tekuté sladké syrovátky bylo zjištěno a v pozitivním náhledu na experimentálně řešenou problematiku konstatováno, že dílčí složky syrovátky (tj. mléčný tuk, laktosa, bílkoviny a minerální látky) negativně neovlivňovaly reakci LAMP, a že bylo prakticky možné syrovátku používat bez nutnosti ji dále upravovat (ředit). Tekutá sladká syrovátka byla pro zkoumání vybrána také z důvodu originality uskutečňovaných pilotních experimentů, které v tomto provedení nebyly doposud realizovány. V budoucnu by bylo možné na tuto problematiku navázat dalšími experimenty, a to např. testováním jiných kitů (komerčně dostupných či individuálně navržených pro analýzu LAMP), jiných testovaných nežádoucích bakterií, jiných vhodných potravinových maticí, a to vše při zohlednění finanční náročnosti experimentů LAMP.

## Závěr

Z výsledků aplikace metody LAMP při detekci 12 nežádoucích bakterií v reálné potravinové matici (tekuté sladké syrovátce) vyplynuly následující závěry. U všech tří grampozitivních bakterií (*Ent. faecium*, *Ent. faecalis*, *Strep. dysgalactiae*) došlo k jejich detekci v syrovátce ze 100 %, a to při využití kitu Eazyplex<sup>®</sup> GP navrženého pro grampozitivní bakterie. U všech 9 gramnegativních bakterií (*E. coli*, *Kl. pneumoniae*, *Ps. aeruginosa*) došlo k jejich detekci v syrovátce také ze 100 %,

a to při využití kitu Eazyplex<sup>®</sup> GN určeného pro gramnegativní bakterie. Na základě uskutečněných experimentů bylo konstatováno, že metoda LAMP představuje rychlou moderní molekulárně biologickou metodu, která poskytuje průkazné a jednoznačné výsledky při detekci zdravotně a technologicky nežádoucích bakterií v tekutých potravinových maticích, jako je např. tekutá sladká syrovátka.

Výsledky z analýz LAMP získané v rámci této práce přispěly k zhodnocení potenciálu této metody a potvrzení, že její transfer z klinické laboratorní praxe do mlékárenské laboratorní praxe je možný. Možnosti a omezení aplikace metody LAMP odpovídají možnostem a omezením metody PCR. Obě tyto metody mají podobná omezení, z nichž se dá vyzdvihnout společná náročnost navrhování vhodných primerů. Přestože existují on-line softwary, které s návrhy primerů mohou pomoci, ne vždy je možné se na ně spolehnout. Pro reakci LAMP je zapotřebí navrhnout 4 až 6 primerů, které cílí na 6 až 8 oblastí, které musí být dostatečně konzervativní a specifické, aby nedocházelo k falešně pozitivním výsledkům. Pro reakci PCR stačí navrhnout pouze 2 primery, které cílí většinou na jednu konzervativní oblast. Metoda LAMP je oproti metodě PCR náročnější, nicméně na druhou stranu specifičtější a spolehlivější.

Navzdory výhodám molekulárně biologických metod se dá predikovat, že tyto metody nemohou v blízkém budoucnu klasické mikrobiologické kultivační metody zcela nahradit.

*Tato práce byla finančně podpořena Ministerstvem zemědělství, Národní agenturou pro zemědělský výzkum, projektem č. QK1710156 (02/2017–12/2021, MZE/QK) v programu "ZEMĚ" (2017–2025), a také díky institucionální podpoře dlouhodobého koncepčního rozvoje výzkumné organizace dle rozhodnutí č. MZE-RO1421. Autoři by*

## Tabulka V

Detekce gramnegativních bakterií (GN) v tekuté syrovátce s využitím metody LAMP a kitu Eazyplex® BloodScreen GN Assay (AmplexDiagnostic GmbH, DEU)

Bakteriální kmen	Analyty detekovatelné kitem Eazyplex® GN																															
	<i>Escherichia coli</i>				<i>Klebsiella pneumoniae</i>				<i>Ps. aeruginosa/ Ps. fluorescens/ Ps. putida</i>				<i>Enterobacteriaceae</i>				CTX-M-1				CTX-M-9				Kontrola inhibice reakce							
	Paralela stanovení																															
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4				
<i>E. coli</i> CCM 7395	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	P	P	P	P
<i>E. coli</i> LEV 682/17	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	P	P	P	P
<i>E. coli</i> LEV 687/17	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	P	P	P	P
<i>E. coli</i> LEV 1456/17	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	P	P	P	P
<i>Kl. pneumoniae</i> CCM 8843	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	P	P	P	P
<i>Kl. pneumoniae</i> LEV 700/17	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	P	P	P	P
<i>Kl. pneumoniae</i> LEV 1009/17	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	P	P	P	P
<i>Kl. pneumoniae</i> LEV 1022/17	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	P	P	P	P
<i>Ps. aeruginosa</i> CCM 7930	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P	P	P	P
Slepý pokus (syrovátka)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P	P	P	P

+ / -... pozitivní/negativní reakce, P... platná, CTX-M-1... bakterie s geny produkce β-laktamasy CTX-M-1, CTX-M-9... bakterie s geny produkce β-laktamasy CTX-M-9

chtěli poděkovat Martině Tylečkové, Bc. (Axon Lab spol. s r.o., CZE) za zapůjčení reakčního termobloku LAMP a Dr. Larsi Wassilovi (AmplexDiagnostics GmbH, DEU) za odborné konzultace k přípravě vzorků pro metodu LAMP.

## LITERATURA

- Notomi T., Mori Y., Tomita N., Kanda H.: J. Microbiol. 53 (1), 1 (2015).
- Garg N., Ahmad F. J., Kar S.: Curr. Res. Microb. Sci. 3, 100120 (2022).
- <https://www.eazyplex.com/BloodScreen>, staženo 10. 8. 2022.
- Osaili T. M., Hasan F., Dhanasekaran D. K., Obaid R. S., Al-Nabulsi A. A., Ayyash M., Karam L., Savvaidis I. N., Holley R.: Int. J. Food Microbiol. 337, 108947 (2021).
- Chai C., Oh S. W.: Food Sci. Biotechnol. 29, 879 (2020).
- Kim J. H., Oh S. W.: Food Chem. 327, 127036 (2020).
- Šviráková E., Kyznar J., Loupancová K.: Mlékařské listy – Zpravodaj 28 (1), 31 (2017).
- Moon Y. J., Lee S. Y., Oh S. W.: Foods 11, 322 (2022).
- <https://www.eiken.co.jp/en/products/lamp/>, staženo 10. 8. 2022.
- Nzelu C. O., Cáceres A. G., Guerrero-Quincho S., Tineo-Villafuerte E., Rodríguez Delfin L., Mimori T., Uezato H., Katakura K., Gomez E. A., Guevara G. A., Hashiguchi Y., Kato H.: Acta Trop. 153, 116 (2016).
- ČSN EN ISO 7218: Mikrobiologie potravin a krmiv – Všeobecné požadavky a doporučení pro mikrobiální zkoušení (duben 2008).
- Abranches J., Tijerina P., Aviléz-Reyes A., Gaca A. O., Kajfasz J. K., Lemos J. K.: Plos One 8 (6), e64875 (2013).
- Ke D., Boissinot M., Huletsky A., Picard F. J., Frenet-

- te J., Ouellette M., Roy P. H., Bergeron M. G.: *J. Bacteriol.* 182, 6913 (2000).
14. Picard F. J., Ke D., Boudreau D. K., Boissinot M., Huletsky A., Richard D., Ouellette M., Roy P. H., Bergeron M. G. J.: *Clin. Microbiol.* 42, 3686 (2004).
  15. <https://biocyc.org/gene?orgid=ECOLI&id=EG12446-MONOMER>, staženo 10. 8. 2022.
  16. <https://loinc.org/LP185688-1/>, staženo 10. 8. 2022.
  17. <https://www.pseudomonas.com/feature/show?id=104708>, staženo 10. 8. 2022.
  18. Woo P. C. Y., Leung P. K. L., Leung K. W., Yuen K. Y.: *J. Clin. Pathol.: Mol. Pathol.* 53, 211 (2000).

**E. Šviráková<sup>a</sup>, K. Loupancová<sup>a</sup>, and I. Němečková<sup>b</sup>** (<sup>a</sup> *University of Chemistry and Technology, Faculty of Food and Biochemical Technology, Department of Food Preservation, Prague*, <sup>b</sup> *Dairy Research Institute, Ltd., Prague*): **Application of the LAMP Method for Detection of Undesirable Bacteria in Whey**

The LAMP method (Loop-Mediated Isothermal Amplification) is a molecular biological method for the amplification of specific DNA and RNA sequences suitable for the detection of various pathogenic, semi-pathogenic and technological undesirable microorganisms. The aim of the work is using the LAMP method for the option verification of detection of health and technologically undesirable bacteria in liquid sweet whey under laboratory conditions. Experiments were carried out with 12 bacterial strains, including three representatives of Gram-positive bacteria (*Enterococcus* spp., *Streptococcus* sp.) and 9 representatives of Gram-negative bacteria (*E. coli*, *Kl. pneumoniae*,

*Ps. aeruginosa*). The Eazyplex<sup>®</sup> BloodScreen GP/GN Assay kits (AmplexDiagnostic GmbH, Germany), designed for Gram-positive (GP) and Gram-negative (GN) bacteria and commonly used in clinical laboratory practice, were used for the LAMP experiments. Based on the obtained results it was concluded that the LAMP method was suitable for the detection of tested bacteria at the level of the species in liquid sweet whey. The results of this work can be used in the application of the LAMP method in dairy laboratory practice, in the targeted assurance of health safety and quality of food raw materials and products, especially liquids.

Keywords: LAMP method, detection of bacteria, undesirable bacteria, whey

- Šviráková E., Loupancová K., Němečková I.: *Chem. Listy* 116, 693–699 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/ch120220693>

#### Acknowledgements

*This work was financially supported by the Ministry of Agriculture, by the National Agency for Agriculture Research, by the project No. QK1710156 (02/2017–12/2021, MZE/QK) in the programme 'ZEMĚ' (2017–2025) and by the institutional support for the long-term conceptual development of research organization according to the decision No. MZE-RO1421. The authors would like to thank Martina Tylečková, B.Sc. (Axon Lab spol. s r.o., CZE) for lending the LAMP reaction termoblok and Dr. Lars Wassill (AmplexDiagnostics GmbH, DEU) for expert advice on sample preparation for the LAMP method.*

## VÝUKA CHEMIE

### EFEKTIVNÍ VYUŽITÍ UVOLNĚNÝCH ÚLOH Z PISA TESTOVÁNÍ NA ROZVOJ VYŠŠÍCH KOGNITIVNÍCH ÚROVNÍ A PŘÍRODOVĚDNÉ GRAMOTNOSTI ŽÁKŮ VE VÝUCE CHEMIE

PETR DISTLER<sup>a</sup>, MILADA TEPLÁ<sup>a</sup>, PAVEL TEPLÝ<sup>a</sup> a JIŘÍ ŠKODA<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Katedra učitelství a didaktiky chemie, Přírodovědecká fakulta UK, Albertov 6, 128 00 Praha 2, <sup>b</sup> Katedra pedagogiky a aplikovaných disciplín, Pedagogická fakulta UJEP, České mládeže 8, 400 01 Ústí nad Labem  
milada.tepla@natur.cuni.cz

Došlo 10.3.22, přijato 15.8.22.

Klíčová slova: PISA, přírodovědná gramotnost, učební úlohy, pedagogický experiment

• <https://doi.org/10.54779/chl20220700>

#### 1. PISA a testování českých žáků

Vstupem do OECD získala Česká republika v roce 1995 možnost se účastnit mezinárodních šetření, která tato organizace pořádá. O účasti na těchto testováních bylo rozhodnuto usnesením vlády ČR č. 277/1999 (cit.<sup>1</sup>). Jedním z největších mezinárodních šetření v oblasti zjišťování výsledků vzdělávání žáků, kterého se účastní kromě členských zemí OECD také další nečlenské státy, je projekt PISA (Programme for International Student Assessment, v českém překladu Program pro mezinárodní hodnocení žáků)<sup>2</sup>. Samotný výzkum je koncipován tak, aby poskytoval tvůrcům školské politiky v jednotlivých zemích informace o fungování školských systémů. Při testování je kladen důraz na osvojené znalosti a dovednosti žáků použitelných při uplatnění na trhu práce či v dalším vzdělávání<sup>3</sup>. Hlavními testovanými oblastmi jsou čtenářská, matematická a přírodovědná gramotnost, které se v důsledku toho staly jedním z výstupů základního vzdělávání<sup>1</sup>. Česká republika se do šetření, které probíhá pravidelně v tříletých intervalech, zapojila poprvé v roce 2000. Cílovou věkovou skupinou jsou patnáctiletí žáci, tzn. zejména žáci na základních školách (9. ročník) a odpovídajících ročníků víceletých gymnázií, na středních školách a v odborných učilištích (1. ročníky)<sup>3</sup>.

#### 2. Přírodovědná gramotnost a výsledky českých žáků

Definice přírodovědné gramotnosti existuje několik a v průběhu času se vyvíjí. Například pro potřeby PISA byla přírodovědná gramotnost vymezena jako schopnost využívat přírodovědné vědomosti, klást otázky a z daných skutečností vyvozovat závěry, které vedou k porozumění světu přírody a pomáhají v rozhodování o něm a o změnách působených lidskou činností s důrazem na každodenní život člověka<sup>4</sup>. Kromě dovednostní složky obsahuje přírodovědná gramotnost i složku znalostní: a) obsahová (znalost teorií, principů a obsahu předmětů), b) procedurální (znalost běžných postupů a strategií, používání dovedností a algoritmů) a c) epistemická (souvisí se schopností žáka hodnotit výsledky vědeckého výzkumu a navrhnout řešení vědeckých problémů). Z PISA šetření mj. vyplynulo, že čeští učitelé dlouhodobě kladou největší důraz na obsahové znalosti<sup>5</sup>.

#### 3. Motivace a cíl pedagogického experimentu – využití uvolněných úloh ve výuce

Uvolněné úlohy z PISA testování byly využity v hodinách chemie za účelem rozvoje vyšších kognitivních cílů a přírodovědné gramotnosti žáků. Pro tyto úlohy je typické, že předkládají žákům k řešení reálné problémy, obsahují úvod s motivačním textem a k jejich úspěšnému vyřešení musí žák využít nejenom informace, které se naučil, ale musí také prokázat, že jim rozumí, umí je aplikovat, analyzovat a hodnotit, tedy že si osvojil vyšší kategorie dle Bloomovy taxonomie. Potenciálu, který se skrývá ve zmíněných komplexních úlohách, si je vědoma i Česká školní inspekce<sup>6</sup>. Cílem pedagogického experimentu bylo odpovědět na výzkumnou otázku, jaký vliv má pravidelné využívání uvolněných PISA úloh v hodinách chemie na úroveň vyšších kognitivních cílů, jejichž osvojení koresponduje s dosaženou úrovní přírodovědné gramotnosti, a vytvoření doporučení pro jejich využití v chemii.

#### 4. Ukázka úlohy 1 – Chlebové těsto<sup>7</sup>

První prezentovaná úloha seznamuje žáky s chemickou podstatou přípravy kynutého pečiva a je doplněna obrazovým materiálem. Pro její úspěšné vyřešení musí žák prokázat kromě svých znalostí i schopnost práce s textem a práci s obrázky (schémata realizace experimentu). Tato úloha byla vybrána proto, že českým žákům dělá problémy navrhování a vyhodnocování přírodovědných experimentů<sup>4,5</sup>. Žáci by si měli úlohu vyřešit sami a poté ji opět projít pod vedením učitele. Pokud žákům během reflexe napíše učitel rovnici ethanolového kvašení na tabuli,

žáci zjistí, že z jedné molekuly glukosy vzniknou dvě molekuly ethanolu a dvě molekuly oxidu uhličitého. Při pokojové teplotě je ethanol kapalina. Lze ho cítit, pokud necháme zakryté těsto např. hodinu kynout a přičichneme si. Při vložení těsta do trouby se začíná ethanol vypařovat a přispívá tak ke kynutí těsta. Kynutí těsta je často přisuzováno jen oxidu uhličitému.

**Text:** Když pekař připravuje chlebové těsto, smíchá mouku, vodu, sůl a droždí. Zpracované těsto dá na několik hodin do mísy, aby v něm mohl proběhnout proces kvašení. Během kvašení dochází v těstě k chemické přeměně: droždí (jednobuněčná houba) přeměňuje škroby a cukry, které jsou obsažené v mouce, na oxid uhličitý a alkohol.

**Otázka 1:** Kvašení způsobuje kynutí těsta. Proč těsto kyne?

A Těsto kyne, protože se vytváří alkohol, který se přeměňuje na plyn.

B Těsto kyne, protože se v něm množí jednobuněčné houby.

C Těsto kyne, protože se vytváří plyn oxid uhličitý.

D Těsto kyne, protože při kvašení se voda mění na páru.

**Otázka 2:** Několik hodin po zpracování těsta pekař těsto zvážil a zjistil, že se jeho hmotnost snížila. Hmotnost těsta je na začátku všech čtyř níže uvedených pokusů stejná. Které dva pokusy by měl pekař porovnat, aby zjistil, zda příčinou úbytku hmotnosti je droždí? (obr. 1)

A Pekař by měl porovnat pokusy 1 a 2.

B Pekař by měl porovnat pokusy 1 a 3.

C Pekař by měl porovnat pokusy 2 a 4.

D Pekař by měl porovnat pokusy 3 a 4.

**Otázka 3:** Působením droždí na cukry a škroby obsažené v mouce dochází v těstě k chemické reakci, při které

Tabulka I

Tvrzení k úloze Chlebové těsto

Je toto vysvětlení původu atomů uhlíku správné?	Odpověď
Některé atomy uhlíku pocházejí z cukrů.	Ano / Ne
Některé atomy uhlíku jsou součástí molekul soli.	Ano / Ne
Některé atomy uhlíku pocházejí z vody.	Ano / Ne
Atomy uhlíku vznikají chemickou reakcí z jiných prvků.	Ano / Ne

vzniká oxid uhličitý a alkohol. Odkud pocházejí atomy uhlíku, které se vyskytují v oxidu uhličitém a v alkoholu? V každém řádku zakroužkuj správnou odpověď (tab. I).

**Otázka 4:** Když se nakynutý chleba vloží do pece, bubliny plynů a par se zvětšují. Proč se plyny a páry při zahřívání roztahují?

A Jejich molekuly se zvětšují.

B Jejich molekuly se pohybují rychleji.

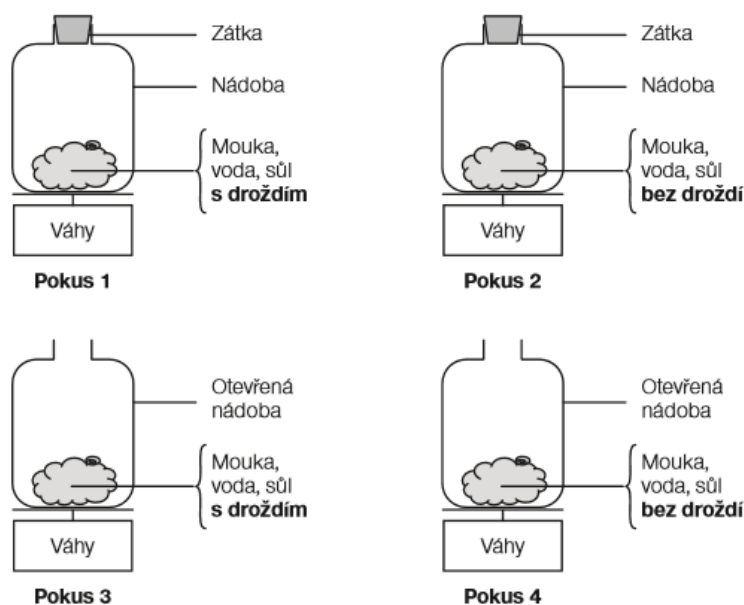
C Počet jejich molekul se zvyšuje.

D Jejich molekuly do sebe méně často narážejí.

**Autorské řešení:** Otázka 1: C; Otázka 2: D; Otázka 3: ano, ne, ne, ne Otázka 4: B. U otázky 1 doporučujeme uznat i odpověď A (viz náš úvodní komentář).

## 5. Ukázka úlohy 2 – Hašení hořícího oleje<sup>8</sup>

Tato úloha byla vybrána, protože vhodně propojuje téma vlastnosti tuků (hořlavost), zásady bezpečné práce mimo chemickou učebnu (laboratoř) a chování při



Obr. 1. Možnosti pokusů k úloze Chlebové těsto

mimořádné události (požár v kuchyni); tedy pro své maximální propojení výuky chemie a běžného života. Doporučujeme nejprve nechat žáky vyřešit úlohu, pak pustit dvě ukázky hašení hořícího oleje z [www.youtube.com](http://www.youtube.com)<sup>9,10</sup>, a před společnou diskusí nechat žáky upravit své původní odpovědi na základě videí. První video *Kitchen Oil Fire*<sup>9</sup> (34 sekund) přehledně shrnuje zásady, co v takovém případě dělat (zůstat v klidu, vypnout zdroj tepla, namočit utěrku a překrýt) a co nedělat (nosit pánev nebo polévat vodou). Druhé video<sup>10</sup> *Nikdy nehaste hořící olej na pánvi vodou* (25 sekund) zobrazuje královehradecké hasiče, jak přilévají vodu na pánev s hořícím olejem. Po diskusi o odpovědích žáků je důležité říct, že použití mokré utěrky je vhodné pouze při malém rozsahu ohně, aby nedošlo k jejich popálení při snaze uhasit hořící olej.

**Text:** Oheň vzniká hořením látek. Při hoření vzniká teplo a světlo. Pro vznik ohně musejí být splněny tři základní podmínky: (1) hořlavá látka, (2) její zahřátí na dostatečně vysokou teplotu a (3) přítomnost kyslíku nebo jiného oxidačního činidla. Pokud jedna z těchto podmínek splněna není, oheň nevzniká nebo naopak uhasíná. V praxi se pro hašení využívají různé látky a prostředky, jejich výběr závisí na vlastnostech hořící látky a druhu hořícího objektu. Při hašení požáru nesmíme podléhat panice.

Eva chtěla rodiče překvapit samostatně připraveným obědem. Rozehřála na vařiči pánev s olejem ke smažení řízků. V tom u dveří zazvonila kamarádka. Než si dívky stačily sdělit novinky, olej v pánvi začal hořet. Eva se do kuchyně vrátila ještě včas, oheň se nerozšířil mimo pánev. Jak se měla v této nebezpečné situaci zachovat?

**Otázka:** Rozhodni o správnosti následujících tvrzení. U každého z navržených řešení stručně odůvodni svoji volbu. Uvaž vlastnosti látek, podmínky nutné pro hoření i minimalizaci možných škod na zdraví i majetku.

**Situace 1:** Vypnout vařič a okamžitě pánev s hořícím olejem vynést před dům. ANO / NE; zdůvodnění:

**Situace 2:** Vypnout vařič a hořící olej v pánvi uhasit studenou vodou. ANO / NE; zdůvodnění:

**Situace 3:** Vypnout vařič, pánev opatrně překrýt poklicí nebo vyždímanou utěrkou namočenou ve studené vodě. ANO / NE; zdůvodnění:

**Autorské řešení:** Situace 1: Ne, hrozí, že se Eva popálí při manipulaci; možnost dalšího rozšíření ohně do okolních prostor. Situace 2: Ne, olej se s vodou nemísí — hoření neustane, neomezí se přístup kyslíku (kapénky oleje ve vzniklém aerosolu mají větší povrch; dochází k rozšíření požáru); vysoké riziko vzniku popálenin. Situace 3: Ano, omezení přístupu kyslíku, postupné snížení teploty oleje (vypnutí vařiče); nejbezpečnější způsob.

## 6. Ukázka úlohy 3 – Rozdílné vlastnosti prvků a sloučenin<sup>11</sup>

Jako poslední ukázkou jsme zvolili úlohu, která vyžaduje propojení většího množství různorodých

chemických informací. Tento typ učební úlohy je pro žáky základních škol a víceletých gymnázií poměrně náročný, a proto úlohu doporučujeme zařadit až ke konci deváté třídy (a odpovídajících ročnících víceletých gymnázií). Při řešení této učební úlohy se ukáže, jak komplexně – napříč jednotlivými chemickými tématy – jsou žáci zvyklí přemýšlet a hledat souvislosti. Při využití v hodinách během pedagogického experimentu žáci mnohdy našli u každé skupiny otázek více kritérií, na základě kterých je možné látku (prvek/sloučeninu) vyčlenit, čímž překonali i autorské řešení. Jako příklad u 1. skupiny žáci uvedli i tyto návrhy: Chlor – má barvu, ostatní látky jsou bezbarvé. Vodní pára – voda je za běžné teploty kapalina, ostatní jsou plyny. V druhé skupině látek: vápník, síra, uhlík, vodík, jod, dusík – žáci kromě autorského řešení vybrali i jod a zdůvodnili to tím, že na rozdíl od jiných látek sublimuje. Rychlejší žákům je možné před společnou kontrolou zadat dílčí úkol: Napsat značky prvků a vzorce sloučenin ke všem látkám (tím si nenásilnou formou procvičí značky a vzorce) a zejména u plynů si připomenou, které plyny tvoří dvouatomové molekuly. Další tipy pro práci s žáky s nadprůměrným prospěchem (rychlejší) jsou uvedeny v kapitole 8.

**Text:** V následujících skupinách chemických látek najdeš vždy jednu, která k ostatním z nějakého důvodu nepatří. Tuto chemickou látku zakroužkuj a vysvětli, proč nepatří mezi ostatní látky ve skupině.

**1. skupina:** kyslík, dusík, chlor, oxid uhličitý, vodní pára  
Zdůvodnění:

**2. skupina:** vápník, síra, uhlík, vodík, jod, dusík  
Zdůvodnění:

**3. skupina:** železo, draslík, chrom, křemík, olovo  
Zdůvodnění:

**4. skupina:** oxid siřový, oxid vápenatý, oxid fosforečný, oxid dusičitý, oxid uhličitý

Zdůvodnění:

**5. skupina:** železo, měď, zinek, stříbro, zlato, rtuť  
Zdůvodnění:

**6. skupina:** kuchyňská sůl, voda, amoniak, chlorovodík, methan

Zdůvodnění:

**Autorské řešení:** 1. Chlor – jako jediná z uvedených chemických látek není standardní složkou vzduchu, jediná je z uvedených látek jedovatá. 2. Vápník – je z uvedených chemických látek jediná kov; ostatní varianty představují nekovy. 3. Křemík – je z uvedených chemických látek jediná polokov; ostatní varianty představují kovy. 4. Varianty představují kyselinotvorné oxidy s jedinou výjimkou – oxidem vápenatým – který je zásadotvorný. 5. Všechny uvedené varianty představují kovové prvky; pouze rtuť však má za normálních podmínek kapalné skupenství, ostatní kovy mají skupenství pevné. 6. Kuchyňská sůl – na rozdíl od ostatních uvedených variant není dvouprvkovou sloučeninou nekovu s vodíkem.

## 7. Stručné představení a výsledky pedagogického experimentu

Pedagogický experiment byl zvolen jako vhodná metoda pro získání informací o efektivitě posunu úrovně přírodovědné gramotnosti žáků kvarty (9. třídy). Pro co nejpřesnější prokázání kauzálních důsledků používání uvolněných úloh ve výuce byly v práci porovnány dvě třídy jednoho učitele, kde byla během celého roku maximální snaha o dodržení stejných podmínek ve výuce. Jako nezávisle proměnná bylo stanovené pravidelné používání uvolněných úloh PISA v hodinách. Jako závislá proměnná se zkoumal výsledek žáků ve výstupních testových úlohách, resp. relativní změna během školního roku (porovnání výsledků ve vstupních a výstupních testových úlohách uvolněných z PISA testování). V experimentální skupině byly řešeny uvolněné úlohy z PISA testování (přibližně jedna až dvě úlohy měsíčně po dobu školního roku). Kompenzace využití uvolněných úloh byla u kontrolní skupiny řešena používáním komerčního pracovního sešitu Taktik International<sup>12</sup> (tento pracovní sešit učitel používal již před domluvou o realizaci pedagogického experimentu) s odpovídající časovou dotací.

Na základě získaných hodnot z pedagogického experimentu a jejich statistické interpretace na základě Mannova-Whitneyova testu<sup>13</sup> můžeme konstatovat, že po skončení pedagogického experimentu byl mezi výsledky žáků kontrolní a experimentální skupiny zaznamenán statisticky významný rozdíl ve prospěch skupiny experimentální. Tyto závěry o vhodnosti využití uvolněných úloh ve výuce jsou ve shodě se závěry a doporučeními studie Potužníkové<sup>14</sup>, ve které uvádí, že úlohy z mezinárodních šetření mohou pomoci utvářet novou kulturu učebních úloh v českých školách, a jejich implementace do výuky podporuje i Dlouhodobý záměr vzdělávání a rozvoje vzdělávací soustavy České republiky<sup>15</sup> nebo Strategie vzdělávací politiky České republiky do roku 2030+ (cit.<sup>16</sup>), které akcentují systematický rozvoj funkčních gramotností. Souběžně s pedagogickým experimentem byly po dobu jednoho školního roku využívány úlohy z PISA testování (v rozmezí 14 až 18 úloh v každé třídě) i na dalších gymnáziích a základní škole. Na základě rozhovorů s učiteli byla sestavena doporučení pro efektivní využívání těchto úloh (viz následující kapitola 8).

## 8. Doporučení pro využití uvolněných úloh v hodinách chemie

Uvolněné úlohy je možné sestavit i do sbírky jako alternativu k pracovnímu sešitu. Níže uvedená doporučení je třeba přizpůsobit potřebám třídy a jednotlivým žákům.

1. Úlohy je možné využívat ve všech fázích hodiny i jako domácí úkoly a za různým účelem (opakování učiva, úvodní motivace do nového tématu, rozšiřování učiva).

2. Před vlastní prací je vhodné žákům vysvětlit, že se jedná o jiný typ učebních úloh a motivovat (stimulovat) je, aby nevzdávali řešení, pokud si hned nebudou jistí odpo-

vědi na předloženou otázku/položený úkol. Žáci by měli mít na řešení úloh dostatek času.

3. Na počátku zařazení úloh do výuky je vhodné nechat žáky pracovat ve dvojicích nebo ve skupince tří žáků, aby mohli o problematice diskutovat a vzájemně si pomáhat s řešením úlohy.

4. V rámci diferenciaci doporučujeme žákům s podprůměrným prospěchem zadat k vyřešení pouze část úlohy (např. vybrat jen některé otázky k úvodnímu textu), čímž jim poskytneme delší čas na tuto dílčí část. Žákům s nadprůměrným prospěchem je možné pak zadat dodatečné úkoly – např. vytvoření názvů k uvedeným sloučeninám, kategorizace uvedených pojmů, nebo problémovou otázku související s tématem, na kterou se pokusí sestavit odpověď s využitím učebnice nebo internetu. Díky různým připraveným aktivitám a diferenciaci pak můžeme lépe pracovat i s časem, který žáci řešení úlohy věnují.

5. Jako vhodný počet je doporučeno během školního roku zařadit 12–15 úloh. Tyto úlohy by po vyřešení žáky měly být dostatečně diskutovány, obzvláště pokud žáci navrhnou hypotézy, postupy řešení vědeckého problému, což bývá časově náročné.

6. V případě omezeného času v hodinách je možné část úloh zadávat ve formě domácího úkolu a následující hodinu provést diskusi. Tak budou mít žáci v případě zájmu o úlohu možnost ji řešit svým tempem a případně si k ní vyhledat další informace.

7. Pokud víte, že žáci potřebují pro úspěšné vyřešení hodiny teoretický základ, od jehož výuky uběhlo více času, je vhodné jim doporučit, aby se na dané téma podívali v rámci domácí přípravy.

## 9. Závěr

Pro uvolněné úlohy z PISA testování je typické, že předkládají žákům k řešení reálné problémy a obsahují úvod s motivačním textem. K jejich úspěšnému vyřešení musí žák využít nejenom informace, které se ve výuce naučil, ale musí také prokázat, že jim rozumí, umí je aplikovat, analyzovat, hodnotit, tedy že si osvojil různé dovednosti a způsoby uvažování. Při realizovaném pedagogickém experimentu se žáci experimentální skupiny (používali během roku ve výuce uvolněné PISA úlohy) na základě provedeného Wilcoxonova párového testu statisticky významně zlepšili, na rozdíl od žáků kontrolní skupiny (používali ve výuce běžný pracovní sešit). Na základě výsledků můžeme dále konstatovat, že používáním uvolněných úloh typu PISA ve výuce došlo u žáků sledované skupiny k rozvoji přírodovědné gramotnosti a že tyto úlohy představují svou komplexní kompozicí vhodný nástroj do výuky chemie. Na stránkách ČŠI (cit.<sup>17</sup>) lze nalézt různé publikace obsahující uvolněné úlohy z PISA testování, které mohou být učiteli využity v hodinách chemie. Na základě roční pilotáže byla pro učitele sestavena a představena konkrétní doporučení, jak s danými úlohami ve výuce chemie efektivně pracovat.

*Tvorba příspěvku byla podpořena grantovým programem Univerzity výzkumná centra UK č. UNCE/HUM/024 a projektem Progres Q17.*

## LITERATURA

- Zeman E.: *Koncepce vzdělávání a rozvoje vzdělávací soustavy v České republice*. Vláda ČR, Praha 1999. <https://www.vlada.cz/cz/clenove-vlady/historie-minulych-vlad/-koncepte-vzdelavani-a-rozvoje-vzdelavaci-soustavy-v-cr-2094/>, staženo 20. 5. 2022.
- <https://www.oecd.org/pisa/>, staženo 20. 6. 2022.
- Palečková J., Tomášek V., Basl J., Blažek R., Boudová S.: *Hlavní zjištění PISA 2012*. ČŠI, Praha 2013.
- Palečková J., Tomášek V., Basl J., Krampová I.: *Hlavní zjištění výzkumu PISA 2006: poradí si žáci s přírodními vědami?* Ústav pro informace ve vzdělávání, Praha 2007.
- Blažek R., Příhodová S.: *Mezinárodní šetření PISA 2015. Národní zpráva – Přírodovědná gramotnost*. Česká školní inspekce, Praha 2016.
- <http://www.csicr.cz/cz/Aktuality/Inspirace-pro-zkvalitnovani-vyuky-prirodovedny>, staženo 15. 5. 2022.
- Fryčková M., Palečková J.: *Přírodovědné úlohy výzkumu PISA*. Ústav pro informace ve vzdělávání – Divize nakladatelství Tauris, Praha 2007.
- Černocký B., Hedbávná H., Herink J., Janoušková S., Kubišková I., Maršák J., Pumpr V., Svobodová J.: *Přírodovědná gramotnost ve výuce: příručka pro učitele se souborem úloh*. Národní ústav pro vzdělávání, Praha 2011.
- <https://www.youtube.com/watch?v=rQ6ZWQztmpY>, staženo 18. 6. 2022.
- <https://www.youtube.com/watch?v=0zBgGUYfP2A>, staženo 19. 6. 2022.
- Mandíková D., Houfková J.: *Přírodovědné úlohy pro druhý stupeň základního vzdělávání*. Ústav pro informace ve vzdělávání, Praha 2011.
- Fuksa J., Jandová J., Macenauerová J., Šenkeřík B., Víšková D., Zemková R., Zimpllová K.: *Hravá chemie 9: pracovní sešit pro 9. ročník ZŠ a víceletá gymnázia*. Taktik International, Praha 2014.
- Merkechová D., Tirpáková A., Stehlíková B.: *Základy statistiky pre pedagogov*. FPV UKF, Nitra 2011.
- Potužníková E., Lokajčíková V., Jan T.: *Pedagogická orientace 24 (2)*, 185 (2014).
- Dlouhodobý záměr vzdělávání a rozvoje vzdělávací soustavy České republiky na období 2019–2023*. MŠMT, Praha 2019. <https://www.msmt.cz/file/51673/>, staženo 10. 4. 2022.
- Fryč J., Matušková Z., Katzová P., Kovář K., Beran J., Valachová I., Seifert L., Beťáková M., Hrdlička F.: *Strategie vzdělávací politiky České republiky do roku 2030+*. MŠMT, Praha 2020.
- <https://www.csicr.cz/cz/Dokumenty/Publikace-a-ostatni-vystupy>, staženo 7. 5. 2022.

**P. Distler<sup>a</sup>, M. Teplá<sup>a</sup>, P. Teplý<sup>a</sup>, and J. Škoda<sup>b</sup>**  
<sup>a</sup> *Department of Teaching and Didactics of Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague;*  
<sup>b</sup> *Department of Education and Applied Disciplines, Faculty of Education, Jan Evangelista Purkyně University, Ústí nad Labem, Czech Republic):* **Effective Using of Released Teaching Tasks from Programme for International Student Assessment (PISA) for the Development of Higher Cognitive Levels and Scientific Literacy of Pupils in Chemistry Education**

During the one-year pedagogical experiment, the released teaching tasks from PISA (Programme for International Student Assessment) assessment were systematically used in the 9<sup>th</sup> grade. The pupils in a control group used a commercial workbook. The results in the initial and final test showed that the pupils from the experimental group statistically significantly improved in most of the tested cognitive levels. We can state that the use of released PISA-type teaching tasks in the chemistry teaching has led pupils to scientific literacy development and that these teaching tasks represent a suitable tool for chemistry teaching. Based on the one-year use of teaching tasks in five different schools, recommendations for their effective use in teaching were made.

Keywords: PISA, scientific literacy, teaching tasks, pedagogical experiment

- Distler P., Teplá M., Teplý P., Škoda J.: Chem. Listy 116, 700–704 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220700>

*Acknowledgements*

*This work was supported by the [Funding Agency of Charles University] under Grant [Progres Q17] and under Grant [UNCE/HUM/024].*



## CHEMICKÝ PRŮMYSL

### PŘECHODOVÁ CESTA CHEMICKÉHO PRŮMYSLU PODLE EU

LADISLAV NOVÁK<sup>a</sup>, MARTIN ŠILHAN<sup>a,b</sup> a JIŘÍ HANIKA<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Česká TP pro udržitelnou chemii, Rubeška 393/7, 190 00 Praha 9, <sup>b</sup> Centrum výzkumu Řež s.r.o., Hlavní 130, 250 68 Husinec-Řež, <sup>c</sup> Ústav chemických procesů AV ČR, v.v.i., Rozvojová 135, 165 02 Praha 6 – Suchbátka, Česká republika  
hanika@icpf.cas.cz

Došlo 17.6.22, přijato 15.8.22.

Klíčová slova: chemický průmysl, legislativa, dopady, konkurenceschopnost, udržitelnost

● <https://doi.org/10.54779/chl20220705>

#### Obsah

1. Úvod
2. Udržitelná konkurenceschopnost
3. Investice a financování
4. Výzkum a inovace, techniky a technologická řešení
5. Regulace a veřejná správa
6. Přístup k energii a surovinám
7. Infrastruktura
8. Dovednosti
9. Sociální rozměr
10. Závěr

#### 1. Úvod

Cílem příspěvku je informovat čtenáře o prvním draftu dokumentu „Transition Pathway of the EU Chemical Industry“. Vzhledem ke značnému rozsahu a množství odborných pojmů je v tomto rukopisu článku prezentován komentovaný výtah z návrhů citovaných dokumentů<sup>1–10</sup>.

Chemický průmysl patří dlouhodobě mezi energeticky nejnáročnější průmyslová odvětví a je největším průmyslovým spotřebitelem ropy i plynu. Navzdory neustálému růstu tržeb z prodeje chemických látek v EU za posledních 20 let se podíl EU na celosvětových tržbách z prodeje chemických látek snížil na 14 % (cit.<sup>2</sup>).

Chemický průmysl má pozoruhodný potenciál přispět k souběžné transformaci (zelené a digitální), pokud bude provedena dobře, směrem k přeměně EU na moderní, konkurenceschopnou ekonomiku účinně využívající zdroje,

jak předpokládá Zelená dohoda pro Evropu<sup>2</sup>. Tato transformační cesta však vyžaduje posílení konkurenceschopnosti evropského průmyslu a zároveň zavedení příznivých politicko-ekonomických podmínek. Chemický průmysl EU je vysoce integrován do mezinárodních hodnotových řetězců, které jsou velmi citlivé na geopolitické situace, jako je ruská válka proti Ukrajině, která byla zahájena v únoru 2022. Tato skutečnost má významný dopad na cíl pro stabilitu a odolnost (resilienci), stanovený aktualizovanou průmyslovou strategií EU<sup>3</sup>, staví ji do nového světla a zdůrazňuje přínos zvýšení schopnosti průmyslu absorbovat vnější otřesy v důsledku křehké geopolitické situace a náročného konkurenčního prostředí s rostoucími cenami energií a surovin v EU.

Chemický a farmaceutický průmysl jsou připraveny aktivně přispívat k dosažení ambiciózních cílů – jako jsou pokroky v medicíně, digitalizace výrobních procesů, ochrana čistoty životního prostředí, stability klimatu nebo elektromobilita. Pouze silný a konkurenceschopný chemický průmysl může zajistit bezpečnou cestu ke klimatické neutralitě a podpořit schopnosti Evropské unie odolávat budoucím krizím, které jsou dnes ještě nepředvídatelné.

#### 2. Udržitelná konkurenceschopnost

Konkurenceschopný chemický průmysl podporuje současnou kvalitní životní úroveň i její zlepšování a udržitelným způsobem vytváří pracovní místa a bohatství společností. To podporuje inovace a rozvoj v celém ekonomickém systému státu. Průmysl je poskytovatelem řešení pro mnoho společenských výzev, stejně jako pro další odvětví.

Chemické látky jsou skutečně součástí základních a strategických hodnotových řetězců Evropy (včetně energetiky, paliv, léčiv, elektroniky, baterií pro elektromobily, stavebních materiálů atd.), a proto zamýšlené změny v ekonomice a politiky, které přijdou spolu s ekologickou a digitální transformací, budou mít „dominový efekt“ ve všech těchto hodnotových řetězcích závislých na chemických látkách. Zajištění ekonomické stability a další rozvoj strategických hodnotových řetězců v Evropě závisí na inovativním a konkurenceschopném chemickém průmyslu a také na právních předpisech, které to umožňují, jakož i na posíleném partnerství resortů včetně nových modelů spolupráce mezi výrobcí chemických látek a odběrateli jinými průmyslovými odvětvími.

Chemický průmysl EU je ale také významně energeticky náročný a současně pod silným konkurenčním tlakem. Čelí výzvám, mezi něž patří jednak zvýšená mezinárodní konkurence, rostoucí ceny energií a vstupních surovin, k tomu – ještě více v současném kontextu války mezi Ruskem a Ukrajinou – narůstá tlak na zvýšení účinného využívání zdrojů a na řešení cíle nulového znečištění

a k tomu bezprecedentní počet nových předpisů v rámci Zelené dohody pro Evropu. Trvalé investice do výzkumu a inovací budou nepochybně hrát klíčovou úlohu při řešení těchto výzev, ale je třeba je prosazovat a podporovat odpovídajícími finančními prostředky. Vzhledem k počtu politických změn, které pronikají i do chemického průmyslu EU, je současně nezbytné jasné stanovení priorit a posloupnost opatření, aby se zajistilo, že resort zůstane trvale a globálně konkurenceschopný.

V minulých letech zahájila Evropská komise řadu iniciativ na podporu konkurenceschopnosti v evropském chemickém průmyslu. Například byly zavedeny politiky usnadňující strukturální změny, jako je udržitelné chemické odvětví, které zahrnuje například integrované a decentralizované biorafinérie, vznikající nová průmyslová odvětví založená na biotechnologiích, jakož i nové a zdokonalené procesy na produkty a výrobní systémy pro recyklaci plastů, se snahou přilákat investice do Evropy. Těmto trendům pomohlo rovněž posílení průmyslové základny EU a podpora investic do výzkumu a inovací prostřednictvím klastrových politik a dalšího zavádění regionálních strategií pro cílenou specializaci.

Evropská Komise rovněž předložila návrhy, které mají zabránit riziku úniku uhlíku do atmosféry a podpořit tím zvýšené ambice EU v oblasti zmírňování změny klimatu. Mechanismus uhlíkového vyrovnání na hranicích (CBAM)<sup>4</sup> se zaměřuje na importy produktů, vyrobených s vysokými emisemi uhlíku, aby se tak zabránilo kompenzaci úsilí EU o snížení emisí skleníkových plynů prostřednictvím dovozu výrobků vyrobených v zemích mimo rámec EU, kde jsou politiky v oblasti změny klimatu méně ambiciózní než v EU. Záměr pomoci zabránit přemístění výroby nebo dovozu výrobků s vysokými emisemi uhlíku při jejich výrobě je v principu rozhodně správný. Je však třeba vyjasnit a splnit mnoho dalších podmínek, aby se CBAM stal proveditelným nástrojem chemického průmyslu EU, například konkurenceschopnost vývozu a s ohledem na složité hodnotové řetězce chemických látek je třeba zvážit alternativní řešení k CBAM.

Konkurenceschopnost evropského chemického průmyslu musí být rovněž chráněna před výrobky, které se dostávají na trhy EU zpoza hranic EU a které nemusí splňovat stejné environmentální a bezpečnostní normy, jaké jsou vyžadovány pro výrobky vyráběné v EU. Kromě toho by se mělo zabránit přemístování chemických výrob do třetích zemí, aby byla zaručena evropská autonomie a bezpečnost i odolnost dodavatelských a hodnotových řetězců. A zároveň je třeba zajistit budoucí vývozní konkurenceschopnost evropského chemického průmyslu. Zajištění rovných podmínek pro transformaci evropského průmyslu směrem k bezpečným a udržitelným technologiím produkce chemických látek vyžaduje jasná pravidla: 1) zjednodušení a transparentnost procesů pro většinu prosazování regulačního rámce při zachování přidané hodnoty a výroby v evropských regionech a dále 2) pro ochranu evropského trhu a ekosystému před toxickými látkami.

Chemický průmysl je jedním z nejvíce globalizovaných průmyslových odvětví EU, které je vysoce závislé na otevřeném a spravedlivém obchodu. Obchodování s che-

mickými látkami musí být spojeno s regulační spoluprací, aby byla zajištěna vysoká úroveň ochrany lidského zdraví a životního prostředí, a zároveň musí být stimulován růst a rozvoj obchodu. EU podporuje se svými obchodními partnerskými zeměmi účinné, transparentní a nákladově efektivní přístupy k nakládání s chemickými látkami podle správné výrobní praxe.

Systém Světové obchodní organizace (WTO) založený na pravidlech vytvořil pro chemický průmysl předvídatelné a stabilní obchodní prostředí, které mu umožňuje růst a investovat v celosvětovém měřítku. Mnohostranný systém však zaostává v dalším rozvoji obchodu se zbožím a ve stanovování nových pravidel. Díky tomu zůstávají dohody o volném obchodu základním kamenem obchodní politiky EU, zaměřují se na odstranění cel a bezcelních překážek, regulační spolupráci a co největší usnadnění přeshraničního obchodu, usilují o co nejjednodušší celní postupy, pravidla původu, digitalizaci veškeré požadované dokumentace a zajištění co největší pružnosti logistických systémů.

Chemické suroviny mají pro evropské hospodářství zásadní význam. EU je závislá na dovozu mnoha surovin, které mají klíčovou úlohu pro silnou evropskou průmyslovou základnu. Evropa a její chemický průmysl čelí několika výzvám v celém hodnotovém řetězci surovin, včetně průzkumu a řízení jejich těžby či sklizně, zpracování a rafinace surovin pro výrobu, používání a jejich recyklace, jakož i jejich rozumné nahrazování.

Podle Plánu výzkumu a inovací do roku 2050 (cit.<sup>5</sup>) bude používání kovů, nerostů, kameniva a biologických surovin (pocházejících z živých organismů) nezbytné pro zásobování většiny výrobních procesů. Škála surovin se však vyvíjí s tím, jak vznikají nové spotřebitelské vzorce, a vyvíjejí se technologie pro nahrazování neobnovitelných, kritických nebo energeticky náročných materiálů nebo pro procesy šetrné ke klimatu.

Některé chemické látky, které jsou nezbytné pro strategické hodnotové řetězce, se již v EU nevyrobějí, protože jejich výroba již nebyla konkurenceschopná. Chemický průmysl vkládá velké naděje do inovací v hodnotových řetězcích surovin, což je oblast, která zůstává nevyužita navzdory svému velkému ekonomickému potenciálu. Koordinovanější přístup k optimalizaci řízení využití surovin pomůže snížit závislost na vnějších dodávkách a povede k účinnému využívání recyklací pro opětovné použití zdrojů. Suroviny tvoří páteř oběhového hospodářství, které je založeno na rostoucím materiálovém využití a postupech, kde je konec životnosti výrobků považován za zdroj pro další cyklus.

Chemický průmysl EU má jedinečné předpoklady k prvkové recyklaci a používání stavebních bloků k výrobě nových chemických látek a materiálů. A nejde jen o recyklaci, ale také o hlubší využívání obnovitelných vstupních surovin, jako je udržitelně získávaná a vyráběná biomasa (oběhové biohospodářství), odpad a CO<sub>2</sub>.

Bezpečnost a udržitelnost chemických procesů již od návrhu budou mít zásadní význam pro zajištění oběhovosti celých hodnotových řetězců chemických látek. Zohlednění životního cyklu chemických látek, které je již ve fázi návr-

hu, urychlí zavádění nových a alternativních chemických výrobků a technologií na trh do řady konečných aplikací/výrobků, přinese větší důvěru spotřebitelů v jejich bezpečnost, environmentální a společenský přínos a urychlí tak přechod k oběhovému hospodářství, nulovému znečištění životního prostředí a klimaticky neutrální společnosti. V této souvislosti by mělo být více podporováno využívání inovativních technologií pro oběhovost hmoty/materiálu již od návrhu, jakož i vytvoření konsolidovaného trhu pro výrobky s žádoucím oběhem již od návrhu.

Navzdory tomu, že chemický průmysl EU charakterizuje mnoho známých velkých společností, většinu chemických odvětví tvoří malé a střední podniky. Malé a střední podniky, které čelí společným výzvám, jsou obzvláště vystaveny dvojí transformaci. Často jsou závislé na jednotlivých chemických produktech a omezených portfoliích. Bývají hluboce zakořeněny v regionu, kde působí, a nemohou snadno přesunout výrobu. Přístup k finančním prostředkům EU na inovace je pro malé a střední podniky také složitější, a to bohužel z časových a administrativních důvodů.

Prosperující stávající synergie nebo rozvoj nových synergií mohou přispět k udržitelné konkurenceschopnosti chemického průmyslu. Například prostřednictvím vysoké úrovně integrace v chemických závodech a uvnitř odvětví nebo v další integraci s projekty jiných odvětví, které přímo přispívají k souběžné transformaci a odolnosti chemických procesů. Klíčem k dalšímu zvýšení oběhovosti, účinného využívání zdrojů a energetické účinnosti bude zejména větší integrace s odvětvím odpadů, dalšími těžkými průmyslovými odvětvími, jako je energetika, ocelářství, nebo cementářství. Kromě toho je nezbytné zlepšit výběr chemických látek, a to od samého počátku, začleněním synergií s výrobci konečných produktů a přijetím přístupu založeného na celém životním cyklu inspirovaném přírodou.

### 3. Investice a financování

Financování z veřejného i soukromého sektoru hraje v chemickém odvětví klíčovou úlohu a partnerství veřejného a soukromého sektoru jsou důležitými hnacími silami ekologické a digitální transformace sektoru chemického průmyslu. Partnerství veřejného a soukromého sektoru pomáhají snižovat investiční rizika, která soukromý sektor podstupuje, a tím posilují potenciál pro inovace a jejich zavádění.

Při vývoji nové látky čelí chemický průmysl velké regulační nejistotě ohledně možného zákazu nebo omezení distribuce produktů a také přístupu bank a investičních společností, pojištěn a zajištěn, které začínají vyžadovat nefinanční reporting známý pod zkratkou ESG (environmental, social, governance), environmentální, sociální, řízení. Toto odvětví vyžaduje vynaložení vysokých investičních nákladů na počáteční investice a často zvýšené provozní náklady na provoz výrobních procesů. V mnoha případech chemický průmysl vyžaduje dovybavení velkých zařízení nebo zařízení vyžadující dlouhodobé plánování spuštění klíčových provozů a velké kapitálové

investice. Regulační nejistota spolu s pomalými schvalovacími postupy pro průmyslové areály následně zvyšuje investiční rizika. V rámci strategie pro udržitelnost v chemické oblasti Evropská Komise po konzultaci se zúčastněnými stranami v současné době vypracovává strategický plán výzkumu a inovací v oblasti chemických látek a materiálů.

Průmysl pak navrhuje přijmout rámec EU pro regulační „pískoviště“, který by pomohl otestovat potenciální průlomové technologie a zajistil tak, že bezpečné a udržitelné chemické látky a materiály budou mít výhodu na trzích.

Nedostatek údajů, nejistota regulace a vysoké kapitálové (a/nebo provozní) výdaje, kterým čelí průmysl, zvyšují rizika pro inovativní společnosti v chemickém odvětví (riziko prvního tahu). Bezpečná a předvídatelná návratnost investic by jistě zvýšila investice průmyslu do inovativních produktů a podpořila trh s bezpečnými a udržitelnými produkty podle návrhu.

Chemický průmysl disponuje významnými fyzikálními aktivy (zavody, laboratoře atd.), pro které je provoz stále ekonomicky životaschopný, i když není udržitelný. Demontáž, dovybavení nebo přestavba stávajících aktiv může z hlediska akcionářů představovat významnou překážku, pokud stávající aktiva nejsou plně odepsána a stále generují příjmy (uvízlá aktiva). Měl by být vypracován akční plán pro správu těchto stávajících aktiv za účelem jejich rekonstrukce/přeměny nebo za účelem jejich nahrazení udržitelnějšími alternativami.

Chemický průmysl, kromě jiných průmyslových odvětví, postrádá povědomí o možnostech financování zejména pro malé a střední podniky, a dotační schémata jsou obvykle poměrně složitá a se značně omezujícími podmínkami. Malé a střední podniky mají obvykle ztíženější možnosti půjček než větší průmyslová odvětví a jsou pak často vystaveny většímu riziku selhání, zejména pokud se pokoušejí být průkopníky v oblasti nových produktů a procesů. Požadavky na podávání zpráv v rámci takového financování mohou být rovněž obtížně splnitelné a pokyny pro taxonomii<sup>6</sup> složité. Lepší pomoc místních a regionálních orgánů by rovněž mohla umožnit vyšší míru úspěšnosti přístupu malých a středních podniků k veřejnému financování. Zúčastněné strany rovněž navrhly vytvoření fondu pro chemické a střední podniky na míru, podporovaného konsorciem všech hlavních komerčních bank EU, aby bylo možné podporovat investice do malých a středních podniků.

### 4. Výzkum a inovace, techniky a technologická řešení

Aby se posílila environmentální udržitelnost chemického průmyslu, včetně klimatické neutrality, jakož i jeho odolnost, musí chemické odvětví EU přijmout udržitelné technologie vyvinuté díky dobře podporovanému politickému programu v oblasti výzkumu, vývoje a inovací. Za tímto účelem však existují i překážky související s financováním, právními předpisy a schopností rozšířit a zavést

výzkum a inovace v Evropě. Tyto překážky lze klasifikovat takto:

- a) **Finanční:** kapitálově náročné přijetí nových technologií, včetně diverzifikace energetiky a vstupních surovin, vysoký provozní stav pro nové výrobní procesy, nejistota ohledně návratnosti investic a zavádění na trh, přístup k financování a jeho využívání, nedostatek pobídek pro vznikající technologie (podpora poptávky), rizika pro nováčky na trhu atd.;
- b) **Právní předpisy:** složité a zdlouhavé schvalovací postupy pro nové, originální technologie a technologická řešení, stávající právní předpisy bránící inovacím (např. spolupráce mezi konkurenty, doložky o výlučnosti) atd.;
- c) **Znalostní a digitální propast:** mezera v údajích o posuzování hospodářské a finanční životaschopnosti nových technologií (zejména pro malé a střední podniky), často náročné posouzení udržitelnosti *ex ante* (zejména u inovací s nízkou úrovní TRL), sdílení údajů, neefektivní výchova podnikatelského myšlení v rámci vysokoškolského vzdělávání, podpora zvyšování kvalifikace stávající pracovní síly, potřeba dále zlepšovat přenos poznatků o technologiích mezi akademickou obcí a průmyslem, digitální propast v oblasti dat velkého objemu, podpora umělé inteligence a kybernetické bezpečnosti (zejména pro malé a střední podniky v přístupu k velkému výpočetnímu výkonu).
- d) **Věda:** překážky vstupu do výzkumu s vysokým rizikem a velkým přínosem v nových oblastech a na nízkých úrovních technologické zralosti, malá míra propojení akademického a průmyslového výzkumu a administrativní překážky omezující využití plného potenciálu evropských výzkumných pracovníků.

Výzkum, vývoj, inovace a nové technologie mohou přispět k modernizaci chemického průmyslu tím, že řeší pět následujících klíčových potřeb. Jedná se o:

- Zlepšení podmínek pro výzkum a inovace umožňující konceptualizaci a vývoj nových technologií se sdílením rizik průmyslem;
- Integrace nových technologií, zejména pro energii a vstupní suroviny pocházející z obnovitelných zdrojů a oběhového hospodářství;
- Účinné a udržitelné rozšiřování inovativních technologií;
- Regulace: účinné a soudržné právní předpisy včetně mechanismů povolování/odchylek;
- Dostupné možnosti financování, zejména pro malé a střední podniky.

Výše uvedená opatření v oblasti výzkumu a inovací zahájí přechod k dosažení ekologických a digitálních cílů a ke zlepšení jeho odolnosti. Zúčastněné strany rovněž navrhly následující dodatečné iniciativy pro Komisi EU a členské státy v oblasti výzkumu a inovací:

- Zvláštní inovační program Horizont Evropa pro strategii udržitelnosti v oblasti výroby chemických látek (zaměřením na SSBP pro nejvíce zasažené hodnotové řetězce), společný program podporující projekty s vyšší úrovní technologické připravenosti;

- Vypracování kritérií pro posuzování projektů s vyšší TRL (od TRL=7 dále);
- Specializovaný uhlíkově neutrální průmysl IPCEI (významné projekty společného evropského zájmu);
- Rozšířit výkonnost EU (Science, Research & Innovation Performance of the EU) nad rámec hodnotových řetězců chemických látek (např. elektrická mobilita, obnovitelná energie);
- Podporovat rychlejší spoluvytváření nových digitálních technologií a související spolupráce, jakož i první uživatele digitálních technologií prostřednictvím vhodného sdílení rizik a opatření pro financování chemického průmyslu;
- Zřídit regulační pískoviště EU a začlenit experimentální doložky do nových právních předpisů;
- Navrhnout rámec pro výměnu údajů na úrovni EU (včetně důsledků práv duševního vlastnictví napříč technologickými platformami a činnostmi EU) prostřednictvím inovačních platform;
- Zjednodušený a koordinovaný přístup k unijním a vnitrostátním výzkumným programům (zejména pro malé a střední podniky);
- Usnadnit zavádění výrobků a technologií na vnitřní trh prostřednictvím zelených veřejných zakázek nebo ekologicky modulovaných poplatků za rozšířené výzkumné cíle;
- Vytvořit účinné nástroje pro sdílení rizik s odpovídajícím hodnocením ve všech TRL, včetně demonstračního zařízení a prvního zařízení svého druhu;
- Pokračovat v podpoře a rozvoji partnerství soukromého a veřejného sektoru týkajících se práv duševního vlastnictví a CBI (důvěrné obchodní informace).

## 5. Regulace a veřejná správa

Pro souběžnou transformaci a zvýšenou odolnost chemického průmyslu EU hrají právní předpisy zásadní úlohu jako umožňující faktor. Probíhající a budoucí právní předpisy a jejich revize mohou řešit některé z hlavních překážek, které v současné době existují, jako je nedostatek jasných definic, prahových hodnot a harmonogramů pro postupné vyřazování látek vzbuzujících mimořádné obavy (SVHC) a pro dosažení cílů klimatické neutrality, nulového znečištění a oběhivosti nebo složitý systém validačních procesů inovativních zkušebních metod. Konkrétně pro malé a střední podniky by překážkou mohly být také vysoké náklady na registraci nových látek nebo zvýšené používání stávajících látek podle nařízení REACH<sup>8</sup>. Kromě toho by mohl být problémem také nedostatek soudržnosti mezi různými právními předpisy EU nebo mezi právními předpisy EU a normami, požadavky a výkladem požadavků stanovenými na vnitrostátní úrovni. Tato harmonizace je nezbytná i ve vztahu ke globálním systémům normalizace, např. změny nařízení CLP (cit.<sup>7</sup>) by měly být navrženy také pro Globální harmonizovaný systém OSN nebo mezinárodní dohody. Překážky v chemickém odvětví by mohly existovat i ve fázi provádění/prosazování. Je proto nezbytné zmapovat stávající regula-

ní faktory a překážky, aby byly uspokojeny následující potřeby:

- **Téma 13: Účinnější a předvídatelnější regulace:** vytvořit pracovní plány do doby, kdy se na které látky nebo skupiny látek budou vztahovat regulační změny, včasné poskytování definic pojmů zavedených v nedávných právních předpisech, jasné a snadné validační procesy inovativních zkušebních metod/modelů pro hodnocení bezpečnosti a udržitelnosti, kvantifikace příspěvku chemického průmyslu nebo odvětví k cílům EU;
- **Téma 14: Soudržné a soudržitelné právní předpisy:** vertikální, tj. mezi právními předpisy EU (včetně různých právních předpisů EU, např. s přihlédnutím k trojímu cíli klimatické neutrality, oběhovosti a chemické bezpečnosti), normami a dalšími opatřeními členských států, jakož i horizontální, tj. harmonizace právních předpisů v celém hodnotovém řetězci;
- **Téma 15: Posílené, harmonizované a koordinované prosazování:** zlepšit prosazování předpisů uplatňovaných na všechny společnosti se zaměřením na zákaz dováženého zboží, které není v souladu s normami EU, zejména pro on-line prodej, zlepšit provádění regulace plným využitím stávajících synergií a dále rozvíjet partnerství soukromého a veřejného sektoru, vytvořit zvláštní podporu provádění právních předpisů malými a středními podniky. Důraz by měl být rovněž kladen na lepší a harmonizovanější prosazování právních předpisů v oblasti bezpečnosti a ochrany zdraví při práci ve všech členských státech EU. Technické pokyny se mohou ukázat jako užitečné pro podrobnosti regulačních požadavků a pro podporu harmonizovaného výkladu a provádění.

Stávající legislativní iniciativy a opatření přispějí k tomu, aby přechod chemického průmyslu dosáhl ekologických a digitálních cílů, jakož i jeho odolnosti. Kromě toho byla navržena následující legislativní opatření k urychlení souběžné transformace a odolnosti chemického průmyslu EU:

1. Určit nová pravidla odpovědnosti za digitální prodej a případná opatření k posílení kontrol dovozu na hranicích a v rámci EU; včetně prodeje na internetovém tržišti;
2. Provádět doporučení kulatého stolu na vysoké úrovni týkající se provádění strategie pro udržitelnost v oblasti chemických látek;
3. Navrhnout nový mechanismus partnerství na podporu vývoje vysoce kvalitních registračních dokumentací podle nařízení REACH a na podporu malých a středních podniků při posuzování bezpečnosti;
4. Přizpůsobit stávající regulační rámec zajišťující podporu rozvoje a zavádění SSB a alternativních výrobních cest, které uznávají zlepšenou environmentální stopu alternativních možností na základě klimatické neutrality technologie;
5. Vytvořit jasné a účinné mechanismy odchylek podle nařízení REACH, zejména pro základní použití, včetně jejich použití, nezbytných k dosažení souběžné transformace;

6. Zlepšit souhru mezi právními předpisy v oblasti BOZP a dalšími právními předpisy v oblasti chemických látek a posílit jejich prosazování s cílem podpořit bezpečnější používání chemických látek, jakož i používání bezpečnějších a udržitelnějších chemických látek s cílem podpořit harmonizované vymáhání v členských státech;
7. Vypracovat technické pokyny pro právní předpisy v oblasti BOZP (Bezpečnost a Ochrana Zdraví při Práci) s cílem zajistit harmonizovanější provádění a prosazování ve všech členských státech EU;
8. Podporovat používání alternativních zkušebních metod (bez pokusů na zvířatech);
9. Harmonizovat vykazování emisí skleníkových plynů podle definice 3;
10. Zahrnout rozšířené používání harmonizovaného přístupu k vypracování kritérií pro směrnici o ekodesignu a ekoznačku EU;
11. Podporovat využívání synergií mezi průmyslovými a zdravotnickými orgány, pracovními a epidemiologickými databázemi jako základ pro budoucí regulační opatření;
12. Revize blokových výjimek pro opatření státní podpory v nařízení o blokových výjimkách a revize antimonopolních pravidel v případě spolupráce na vývoji a provádění technik a technických řešení, které do značné míry přispívají k souběžné transformaci.

Tyto návrhy nejsou součástí konečného plánu, do něhož byly zahrnuty pouze akce a opatření vyplývající ze stávajících legislativních iniciativ. V mnoha případech jsou však tyto návrhy nepřímým zahrnutím jako opatření ze strany průmyslu.

## 6. Přístup k energii a surovinám

Chemický průmysl je celosvětově zodpovědný za asi 5–6 % celkových globálních emisí. Procesy předcházející dodavatelskému řetězci, zejména výroba amoniaku, olefinů a methanolu, jsou nejnáročnější na emise.

Scénář čistých nulových emisí do roku 2050 předpokládá jasné snížení emisí oxidu uhličitého (CO<sub>2</sub>) z primární chemické výroby. Kromě toho si EU klade za cíl být do roku 2050 klimaticky neutrální. Chemický průmysl EU musí snížit svůj dopad výroby na emise skleníkových plynů přechodem na dodávky nízkouhlíkové energie, ale také další optimalizací a rozvojem nových výrobních procesů. Pokud jde o transformaci energetiky, několik energeticky náročných odvětví bude soutěžit o snížení absolutní energetické hodnoty. Celková spotřeba energie proto musí být sledována, aby se zabránilo negativním externalitám způsobeným tímto „přepínačem“. Vedle toho se chemický průmysl bude muset zabývat problémem přímých i nepřímých emisí.

Kromě toho musí být ještě zavedena nezbytná infrastruktura pro transformaci energetiky a diverzifikaci vstupních surovin a musí být vypracována jasná strategie pro přechod od fosilních zdrojů k biologickým zdrojům, čímž se také využije zachycování a využívání uhlíku. Roz-

šíření sítě je nezbytné pro přístup k nízkouhlíkové energii ze všech lokalit, nejen z těch, které jsou blízké výrobě. Stávající zdroje musí být přizpůsobeny odezvě na straně poptávky a poskytovat flexibilní výrobní jednotky a skladování. Musí se rozvíjet nové zdroje flexibility, jako je power to-X a nové typy skladování energie (např. pro vodík a amoniak). Musí být zajištěna nezbytná záložní kapacita, aby bylo možné se vypořádat s přerušením nebo budoucím narušením zdrojů energie.

Tyto zdroje energie vyžadují ekonomickou životaschopnost, aby na trhu přetrvávaly. Chemické látky vyrobené z obnovitelných zdrojů nebo vodíku pomocí elektřiny by proto měly být podporovány a zhodnocovány podle úrovně CO<sub>2</sub>. Rozdílné náklady na technologii výroby chemických látek s nulovými emisemi a další více znečišťující alternativy v cenách na světovém trhu jsou stále důležité. To by mohlo být překlenuto například prostřednictvím smluv o rozdílech a dlouhodobých smluv na nízkouhlíkovou elektřinu.

Výroba chemických látek a materiálů je stále silně závislá na vstupních surovinách na bázi fosilních paliv, a proto se vyvíjejí řešení pro substituci. Navrhování a výroba chemických látek z biologického materiálu spolu se specializovanými dodavatelskými a výrobními infrastrukturami (např. biorafinériemi, dodavatelskými řetězci založenými na biotechnologiích) by mohly umožnit udržitelnější výrobu chemických látek a materiálů prostřednictvím kaskádového zhodnocování biomasy. Prognóza dostupnosti biomasy však zůstává klíčovou výzvou pro dosažení přechodu od vstupních surovin na bázi fosilních paliv. Produkce biomasy by měla zohledňovat a vyvažovat hospodářské, sociální a environmentální aspekty udržitelnosti. V EU se biomasa vyrábí při dodržení nejvyšších norem kvality a udržitelnosti. Subjekty v biohospodářství se snaží získat hodnotu ze všech frakcí suroviny biomasy, včetně těch, které mohly být dříve považovány za odpad nebo zbytky. Kromě toho je třeba zohlednit a motivovat další typy řešení obnovitelných vstupních surovin (např. CCU, která zahrnuje také biogenní plyny).

Oběhový uhlík z odpadu je také řešen jako potenciální alternativa k chemickým vstupním surovinám. Podle zúčastněných stran však průmysl čelí rostoucím překážkám při přeshraniční přepravě odpadů v rámci EU a je třeba harmonizovat uplatňování kritérií, kdy odpad přestává být odpadem.

Průmysl také poukazuje na to, že neexistuje oficiální uznání zásady účtování hmotnostní bilance. Ve srovnání se zelenou elektřinou umožňuje přístup založený na hmotnostní bilanci přidělit různé suroviny (fosilní vstupní suroviny a biomasu, ale také odpad) konkrétním prodejním produktům uváděným na trh. Tento přístup uplatňovaný na chemické látky je nadále předmětem diskusí na úrovni EU.

Pro zvýšení odolnosti chemického průmyslu a zmírnění vnějších otřesů (např. geopolitických, klimatických změn, volatility globálních dodavatelských řetězců) je nezbytná geografická diverzifikace vstupních surovin chemických látek. Nedostatečná infrastruktura a rozšířená závislost na fosilních surovinách jsou důležitými překážkami geografické diverzifikace dodavatelských řetězců chemických

látek. Po krizi způsobené pandemií COVID-19 a konfliktem na Ukrajině se narušením globálních dodavatelských řetězců zabývaly nové soubory iniciativ Komise ke zvýšení odolnosti Evropy (např. platforma global gateway, REPowerEU).

Recyklace by navíc mohla být součástí řešení při udržování vstupních surovin pro minerály vzácných zemin v Evropě a při zabezpečení částí dodavatelského řetězce. Některé vstupní suroviny však zůstanou k dispozici pouze v některých regionech světa, které jsou úzce spjaty s dostupnými přírodními zdroji dané země.

## 7. Infrastruktura

Přístup k energii a vstupním surovinám je úzce propojen s dostupnými infrastrukturami pro výrobu chemických látek. Nedostatečná infrastruktura v okolí stávajících průmyslových areálů, zejména v pozemních lokalitách ve střední a východní Evropě, a pomalé schvalovací postupy na úrovni členských států pro energetické a průmyslové procesy zpomalují rozvoj této infrastruktury. Úzká místa sítě musí být odstraněna a musí být zavedena přeshraniční propojovací vedení, která umožní volný tok energie mezi zeměmi. Mohla by být uzavřena dvoustranná dohoda mezi odesílajícími a přijímajícími zeměmi zachyceného CO<sub>2</sub> s cílem zajistit odpovídající skladování energie a flexibility.

Průmysl hlásí vysoké bezpečnostní standardy pro vodíkové infrastruktury a otázku občanů „Not in my Back Yard“ pro tento rozsáhlý vývoj. V rámci úsilí o překonání těchto překážek podporuje Evropská aliance pro čistý vodík rozsáhlé zavádění technologií čistého vodíku do roku 2030 tím, že spojuje výrobu vodíku z obnovitelných zdrojů a nízkouhlíkové vodíky, poptávku v průmyslu, mobilitu a další odvětví a přenos a distribuci vodíku. Balíček týkající se trhu s vodíkem a dekarbonizovaným plynem zveřejněný v prosinci 2021 navíc předkládá politická opatření nezbytná na podporu vytváření optimální a specializované infrastruktury, jakož i účinných trhů. Jeho cílem je odstranit překážky dekarbonizace a vytvořit podmínky pro nákladově efektivnější transformaci.

Současná zařízení na výrobu chemikálií jsou vysoce závislá na fosilních surovinách. Zavedení výrobních zařízení s nižšími emisemi má zásadní význam pro snížení emisí skleníkových plynů. Průmysl však bere na vědomí rozsáhlé časové lhůty potřebné k vybudování nezbytné infrastruktury a plánování bezpečnosti v dlouhodobém investičním horizontu, kromě problémů s povolením, kterým čelí při výstavbě nových infrastruktur, jakož i nedostatku přeshraniční spolupráce.

Špatná kvalita a dostupnost železniční dopravy pro vstupní suroviny a konečné produkty, jakož i nedostatek integrované mezinárodní železniční nákladní dopravy a řízení kapacity jsou dvě hlavní překážky, které brání dalšímu zavádění celoevropské železniční infrastruktury, která by umožnila významný modální přechod ze silnic na železniční tratě. Nařízení o transevropských energetických sítích podporuje rozvoj propojení energetické infrastruktury s cílem zvýšit udržitelný rozměr dopravy.

Digitální transformace chemického průmyslu a zavádění dostupných technologií pro zpracování a výrobu urychlí cestu průmyslu k digitálním, ekologickým a odolným cílům. Průmysl musí zvýšit míru zavádění dostupných technologií pro navrhování a výrobu procesů (např. internet věcí, data velkého objemu, umělá inteligence, automatizace, inteligentní senzory, digitální dvojčata a robotika). Průmyslová sdružení zmiňují potřebu nových norem pro digitální platformy, které by umožnily výměnu informací o chemických látkách. Tyto normy musí být definovány pro data, interoperabilitu a správu tak, aby byla zajištěna ochrana CBI (Centrálním dohlížecím úřadem). Tento digitální posun přichází spolu s problémy kybernetické bezpečnosti a čelí lidskému odporu vůči změnám. Tato řešení vyžadují proces spoluvytváření. Evropská komise tyto inovace podporuje vytvářením investičních programů, jako je InvestEU nebo program Digitální Evropa.

Investice do hodnotových řetězců sběru a třídění plastového odpadu s cílem zajistit a zlepšit přístup k důležitým alternativním zdrojům vstupních surovin jsou nezbytné pro intenzivnější rozvoj infrastruktury pro recyklaci a opětovné použití. Cenová konkurenceschopnost primárních materiálů ve srovnání s recyklovaným materiálem prostřednictvím mechanických recyklačních procesů, jakož i nedostatečná podpora pro vytvoření recyklovaných koncových trhů po spotřebě představují silné ekonomické překážky pro tento projekt oběhivosti. Nový akční plán pro oběhové hospodářství ukazuje cestu ke klimaticky neutrálnímu konkurenceschopnému hospodářství tím, že mění způsob, jakým vyrábíme a spotřebováváme, spolu s iniciativami na modernizaci a transformaci našeho hospodářství a zároveň na ochranu životního prostředí.

Zavádění technologií zachycování a ukládání uhlíku (CCS) a zachycování a využívání uhlíku (CCU) vyžaduje rozšíření spolehlivé infrastruktury pro přepravu a ukládání CO<sub>2</sub>, neboť hlavní překážkou pro chemický průmysl je nedostatečný přístup k potrubí a ukládání CO<sub>2</sub>, jakož i zdoluhavé a složité provádění. Prostřednictvím funkčního konceptu cirkulárních hubů (centra aktivity pro využití odpadu a dávání druhé šance výrobkům) může být CO<sub>2</sub> produkovaný energeticky náročným průmyslem, např. ocelářským, využíván chemickým průmyslem v okolí, čímž se zabrání potřebě rozšíření infrastruktury pro přepravu a skladování CO<sub>2</sub>. Veřejnost se stále zdráhá přijmout a podpořit zavádění těchto technologií.

## 8. Dovednosti

Zúčastněné strany uvádějí, že v současné době chemický průmysl postrádá kvalifikované pracovníky, zejména na technické úrovni, v oblasti výzkumu a inovací, výroby, logistiky, chemické bezpečnosti a regulace atd. Nové, účinné a inkluzivní přístupy k odborné přípravě mají zásadní význam pro rychlou integraci nové pracovní síly na trh práce a využití příležitosti k odborné přípravě v kombinaci se skutečnými pracovními úkoly. To zahrnuje také modernizaci vyučovacích metod a vzdělávacích programů. Rekvalifikace těchto pracovníků by měla být prioritou, aby

se zabránilo celkovému úbytku pracovních míst a aby byla pro chemické odvětví přínosem. Zvláštní pozornost je třeba věnovat také školení o regulačních a bezpečnostních aspektech chemie.

Malé a střední podniky obvykle nemají kapacitu na interní rekvalifikaci svých pracovníků, zejména s potenciálním rizikem odchodu zaměstnanců. Partnerství v oblasti dovedností pro zúčastněné strany v chemickém průmyslu v rámci Paktu dovedností poskytnou příležitosti k odborné přípravě pracovníků v celém chemickém průmyslu, včetně těch, kteří pracují v malých a středních podnicích nebo je řídí. Pakt EU pro dovednosti by mohl poskytnout společnou podporu, vedení a monitorování rozvoje chemických dovedností mezi zúčastněnými stranami chemického průmyslu EU a zdůraznit potřebu rekvalifikace a zvyšování kvalifikace pracovní síly pro souběžnou transformaci a měnící se požadavky průmyslu. Mezi další zdroje podpory dovedností patří:

- A) Akční digitální vzdělávání 2021–2027 (cit.<sup>9</sup>), jehož cílem je podpořit udržitelné a účinné přizpůsobení systémů vzdělávání a odborné přípravy členských států digitalizaci, by mohlo pomoci identifikovat hlavní nedostatky a opatření, a
- B) Evropská strategie pro univerzity<sup>10</sup>, která poskytuje opatření přispívající rovněž k přechodové cestě chemického průmyslu EU, neboť cílem strategie je podpořit a umožnit univerzitám přizpůsobit se měnícím se podmínkám, prosperovat a přispívat k odolnosti a oživení Evropy

## 9. Sociální rozměr

Zelená dohoda pro Evropu a digitální strategie EU věnují zvláštní pozornost podpoře těch regionů, průmyslových odvětví, pracovníků, domácností a spotřebitelů, které budou čelit největším výzvám přicházejícím se sociálním dopadem souběžné transformace. Dopad, který se liší podle odvětví, povolání, regionu a země, s sebou nese zejména změny pracovních míst v průmyslových ekosystémech a přerозdělávání pracovních sil v rámci těchto ekosystémů, což vyžaduje odpovídající předvídaní změn a v případě potřeby sociálně odpovědnou restrukturalizaci. V případě chemického průmyslu EU by měla být věnována zvláštní pozornost všeobecné soudržnosti, dopadu na pracovní sílu a spotřebitele, jakož i zlepšující se rovnost žen a mužů a rozmanitost v tomto odvětví. Pro každou z těchto neuspokojených potřeb je v citovaných zdrojích<sup>1–10</sup> uveden seznam opatření, která mají být provedena průmyslem a Komisí EU a/nebo členskými státy.

Transformace musí být spravedlivá a inkluzivní, musí klást lidi na první místo a věnovat zvláštní pozornost podpoře těch pracovníků, domácností a spotřebitelů, kteří budou čelit největším výzvám. V této souvislosti by měl hrát důležitou úlohu sociální dialog.

V historicky genderově nevyváženém odvětví, jako je odvětví chemického průmyslu, jsou proto nezbytná opatření a iniciativy k řešení tohoto nedostatku a nedostatečné rozmanitosti. Například je často velmi důležité zvýšit podíl

žen ve vedoucích pozicích v chemickém průmyslu. Je rovněž klíčové rozvíjet atraktivní profesní dráhy se stabilním a kvalitním zaměstnáním a zajištění spravedlivých mezd a dobrých pracovních podmínek prostřednictvím kolektivního vyjednávání, což bude zásadní pro přilákání a udržení kvalifikované pracovní síly.

Měla by být rovněž přijata opatření k řešení stávající mezery ve znalostech o některých aspektech chemického průmyslu. Je například třeba zvýšit sběr údajů o diferencovaných rizicích postihujících pracující ženy a poskytnout vyčerpávající posouzení těchto údajů. Je také důležité řešit nedostatek rozšířených údajů souvisejících s expozicí chemickým látkám, zejména nejsou dostatečně přizpůsobeny tak, aby zahrnovaly pracující ženy.

Už v kapitole Investice a financování jsme zmínili přístup financujících institucí, ale i pojišťoven a zajišťoven. V posledních letech jsou totiž podniky ve vzrůstající míře zatěžovány povinností nefinančního reportingu, který má mnoho podob a názvů, v poslední době je nevíce populární ESG (Environmental, Social, Governance), tj. environmentální, sociální, řízení. Již nyní je nefinanční vykazování povinné pro finanční instituce, od příštího roku pro velké firmy nad 250 zaměstnanců a od roku 2026 se pravděpodobně přidají malé a střední podniky. Ty však vůbec, až na výjimky, nemají zkušenost s vedením či vykazováním svých nefinančních aktivit.

Na měření environmentálního a sociálního řízení stále neexistuje přesná metodika a většina firem neví, jakými nástroji měření provést. Povinnost ESG reportingu se přitom podle České bankovní asociace na tuzemské banky částečně vztahuje již od poloviny roku 2021 a v letošním roce ji banky ještě prohloubí a rozšíří na všechny firmy.

S problematikou ESG souvisí i (dobrovolné) rozhodnutí prakticky všech komerčních bank neposkytovat prostředky na projekty, které jsou dle jejich kritérií málo „zelené“. K tomu se přidává nemožnost dotovat takové projekty z veřejných prostředků. Oba faktory významně brzdí možnosti dalšího rozvoje chemického průmyslu.

## 10. Závěr

Evropská Komise společně se zúčastněnými stranami vytýčila několik bloků k určení témat, která by se týkala klíčových aspektů transformace chemického průmyslu při zachování jeho další existence. Chemický průmysl v EU jednoznačně trpí nadbytkem regulace, která snižuje jeho konkurenceschopnost a v současné konstelaci nemůže být bez další umělé ochrany konkurenceschopný. Chemický průmysl systematicky a dlouhodobě provádí aktivity, vedoucí k omezení jeho dopadu na životní prostředí. Nedávné události (COVID, související nefunkčnost čínských přístavů, ruské operace na Ukrajině) ukazují strategický význam zachování chemického průmyslu v EU.

Seznam zkratk

CBAM Carbon Border Adjustment Mechanism  
(Mechanismus uhlíkového vyrovnávání na

	hranicích)
CCS	Carbon capture and storage (zachytávání a ukládání uhlíku)
CCU	Carbon capture and utilization (zachytávání a využívání uhlíku)
CLP	Classification and labelling of chemicals (Klasifikace, označování a balení chemických látek a směsí)
ESG	Environmental, Social, Governance (Environmentální, sociální, řízení)
IPCEI	Important Projects of Common European Interest (Důležité projekty společného evropského zájmu)
REACH	Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals, (Registrace, hodnocení, povolování a omezení chemických látek)
SSBD	Safe and Sustainable by Design (bez běžného českého překladu)
SVHC	Substance of very high concern (Chemická látka vzbuzující mimořádné obavy)
TRL	Technology Readiness Level (Úroveň technologické připravenosti)
WTO	World Trade Organisation (Světová obchodní organizace)

## LITERATURA

1. CEFIC, 2022. The European chemical industry: a vital part of Europe's future. Facts & Figures 2022, dostupné na [https://cefic.org/app/uploads/2022/01/Leaflet-FactsFigures\\_interactif\\_V02.pdf](https://cefic.org/app/uploads/2022/01/Leaflet-FactsFigures_interactif_V02.pdf), staženo 27. 5. 2022.
2. Communication from Commission to the European Parliament, the European Council, the European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions, 640 (2019).
3. Communication from the Commission to the European Parliament, the European Council, the Council, the European economic and Social Committee and the Committee of the Regions a New Industrial Strategy for Europe 102 (2020).
4. Proposal for a Regulation of the European Parliament and of the Council Establishing a Carbon Border Adjustment Mechanism 564 (2021).
5. Research and Innovation Roadmap 2050 A Sustainable and Competitive Future for European Raw Materials, dostupné na [http://veram2050.eu/wp-content/uploads/2018/04/Broch.Veram\\_180328\\_LR.pdf](http://veram2050.eu/wp-content/uploads/2018/04/Broch.Veram_180328_LR.pdf), staženo 27. 5. 2022.
6. Regulation (EU) 2020/852 of the European Parliament and of the Council of 18 June 2020 on the Establishment of a Framework to Facilitate Sustainable Investment, and Amending Regulation (EU) 2019/2088.
7. Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on Classification, Labelling and Packaging of Substances and Mixtures, Amending and Repealing Directives



- 67/548/EEC and 1999/45/EC, and Amending Regulation (EC) No 1907/2006.
8. Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 Concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), Establishing a European Chemicals Agency, Amending Directive 1999/45/EC and Repealing Council Regulation (EEC) No 793/93 and Commission Regulation (EC) No 1488/94 as well as Council Directive 76/769/EEC and Commission Directives 91/155/EEC, 93/67/EEC, 93/105/EC and 2000/21/EC.
  9. Akční plan pro digitální vzdělávání 2021-2027, dostupný na <https://education.ec.europa.eu/focus-topics/digital-education/about/digital-education-action-plan>, staženo 27. 5. 2022.
  10. Evropská strategie pro university, dostupná na <https://education.ec.europa.eu/document/commission-communication-on-a-european-strategy-for-universities>, staženo 27. 5. 2022.

**L. Novák<sup>a</sup>, M. Šilhan<sup>a,b</sup>, and J. Hanika<sup>c</sup>** (<sup>a</sup> *Czech Technology Platform for Sustainable Chemistry, Prague*, <sup>b</sup> *Research Center Řež, Husinec – Řež*, <sup>c</sup> *Institute of Chemical Process Fundamentals, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic*): **Transition Pathway of the Chemical Industry According to EU**

The paper informs about the first draft of the “Transition Pathway of the EU Chemical Industry“. Due to the considerable scope of the document, an annotated excerpt from the draft documents is presented.

Keywords: chemical industry, regulation, competitiveness, sustainability

- Novák L., Šilhan M., Hanika J.: Chem. Listy 116, 705–713 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/ch120220705>



PŘÍRODOVĚDECKÁ  
FAKULTA  
Univerzita Karlova

 **Metrohm**  
Česká republika



METROHM Česká republika s.r.o.  
ve spolupráci  
s Odbornou skupinou analytické chemie  
a  
Odbornou skupinou elektrochemie  
České společnosti chemické  
vyhlašuje

## 12. ročník soutěže Cena Metrohm 2023

### A. Cena Metrohm za nejlepší publikaci mladého chemika (do 35 let).

Uděljuje se 5 cen, každá dotovaná částkou 10 000 Kč:

3 ceny v oblasti elektroanalytické chemie

1 cena v oblasti UV-Vis-NIR spektroskopie a Ramanovy spektrometrie

1 cena v oblasti kapalinové chromatografie pro separaci iontových a polárních látek

Soutěžící necht' zašlou pdf-verzi své publikace, vyšlé v roce 2022, e-mailem na adresy barek@natur.cuni.cz a peter.barath@metrohm.cz spolu se svými identifikačními údaji (příjmení, jméno, pracoviště, datum narození, případně členské číslo České společnosti chemické) do 31. prosince 2022. Do předmětu prosíme uvést Cena Metrohm 2023.

### B. Cena firmy Metrohm za celoživotní přínos k rozvoji elektroanalytické chemie.

Uděljuje se jediná cena, dotovaná částkou 20 000 Kč. Nominační návrh se stručným zdůvodněním v rozsahu cca 2 stránky může zaslat jednotlivec i instituce na emailové adresy barek@natur.cuni.cz a peter.barath@metrohm.cz do 31. prosince 2022.

O udělení ceny bude rozhodovat komise ve složení: Ing. P. Barath, prof. J. Barek, prof. J. Labuda, prof. J. Ludvík, prof. L. Trnková, prof. P. Janoš, prof. P. Matějka. Rozhodnutí této komise je definitivní a nepodléhá žádnému dalšímu schvalování jinými orgány.

**Vyhlášení vítězů této soutěže proběhne na semináři firmy Metrohm Česká republika na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy v Praze v únoru 2023. Přesné datum bude oznámeno později. Budeme průběžně informovat e-mailem a na www stránkách firmy Metrohm, Chemických listů a České společnosti chemické.**

Za Metrohm Česká republika s.r.o.

Ing. Peter Barath, Ph.D.

Ředitel společnosti

Za Odbornou skupinu analytické chemie  
České společnosti chemické

prof. RNDr. Jiří Berek, CSc.

Vedoucí UNESCO laboratoře elektrochemie životního prostředí  
Katedra analytické chemie PřF UK Praha

---

**OBSAH****ÚVODNÍK**

**Vážené čtenářky, vážení čtenáři** 661  
J. Petr

**REFERÁTY**

**Eukaryotické mikroorganismy jako biologické továrny na přípravu nanočástic kovů** 662

A. Miškovská a A. Čejková

**O chmelových hlávkách do zlatavého moku** 668

M. Jurášek, A. Rybka, L. Opletal a P. Drašar

**Membrány se smíšenou maticí pro záchyt oxidu uhličitého** 672

K. Hamalová a Z. Kolská

**Polyimidy na báze surovin z obnovitelných zdrojů** 681

M. Šusterová a P. Sysel

**PŮVODNÍ A METODICKÉ PRÁCE**

**Stanovení remdesiviru pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí u pacienta s infekcí SARS-CoV-2** 687

J. Petrus, T. Grondžák, J. Čepová, K. Dunovská, B. Hosnedlová, J. Beroušek, R. Průša, R. Kizek a E. Klapková

**Aplikace metody LAMP pro detekci nežádoucích bakterií v syrovátce** 693

E. Šviráková, K. Loupancová a I. Němečková

**VÝUKA CHEMIE**

**Efektivní využití uvolněných úloh z PISA** 700

**testování na rozvoj vyšších kognitivních úrovní a přírodovědné gramotnosti žáků ve výuce chemie**

P. Distler, M. Teplá, P. Teplý a J. Škoda

**CHEMICKÝ PRŮMYSL**

**Přechodová cesta chemického průmyslu podle EU** 705

L. Novák, M. Šilhan a J. Hanika

---

**CONTENTS****EDITORIAL**

**Respected Readers** 661  
J. Petr

**REVIEW ARTICLES**

**Eukaryotic Microorganisms as Biological Factories for the Preparation of Metal Nanoparticles** 662

A. Miškovská and A. Čejková

**About Hop Cones for a Golden Brew** 668

M. Jurášek, A. Rybka, L. Opletal, and P. Drašar

**Mixed Matrix Membranes for Carbon Dioxide Capture** 672

K. Hamalová and Z. Kolská

**Polyimides Based on Feedstocks from Renewable Sources** 681

M. Šusterová and P. Sysel

**ORIGINAL AND METHODOLOGICAL PAPERS**

**Detection of Remdesivir by Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry in a Patient with SARS-CoV-2 Infection** 687

J. Petrus, T. Grondžák, J. Čepová, K. Dunovská, B. Hosnedlová, J. Beroušek, R. Průša, R. Kizek, and E. Klapková

**Application of the LAMP Method for Detection of Undesirable Bacteria in Whey** 693

E. Šviráková, K. Loupancová, and I. Němečková

**EDUCATION IN CHEMISTRY**

**Effective Using of Released Teaching Tasks from Programme for International Student Assessment (PISA) for the Development of Higher Cognitive Levels and Scientific Literacy of Pupils in Chemistry Education**

P. Distler, M. Teplá, P. Teplý, and J. Škoda

**CHEMICAL INDUSTRY**

**Transition Pathway of the Chemical Industry according to EU** 705

L. Novák, M. Šilhan, and J. Hanika

# Soutěž na logo Školy hmotnostní spektrometrie

Sekce hmotnostní spektrometrie Spektroskopické společnosti Jana Marka Marci (SSJMM) vyhlašuje soutěž na **návrh loga** Školy hmotnostní spektrometrie.

## Škola hmotnostní spektrometrie

Škola hmotnostní spektrometrie je intenzivní týdenní výukový kurz určený pro zájemce o hmotnostní spektrometrii. První ročník se uskutečnil v roce 1986 a od té doby proběhlo 21 úspěšných ročníků, přičemž v posledních letech je tato akce pořádána každoročně. Organizátorem je Spektroskopická společnost Jana Marka Marci. Škola MS je ideálním prostorem pro odborné diskuse, výměnu zkušeností a navazování nových profesních kontaktů.

## Podmínky:

Budou použity maximálně 3 barvy (včetně podkladu), nebudou použity barevné přechody.

Pokud bude návrh v jiném než černo-bílém provedení, bude zpracována i černobílá verze.

Logo musí být univerzálně použitelné v různých velikostech (web, tašky, propagační předměty...).

## Formát:

Návrh bude odevzdán v elektronické podobě ve formě vektorové grafiky a současně ve formě náhledu v pdf souboru, kde bude logo zobrazeno ve dvou velikostech (velké, v průměru aspoň 15 cm, a malé, v průměru cca 2 cm).

Pokud je barevné řešení jiné než černobílé, odevzdá soutěžící v obou velikostech taktéž černobílou mutaci loga.

## Termín:

Soutěžní návrhy je nutno doručit na adresu tajemníka Spektroskopické společnosti JMM Tomáše Vašiny ([immss@spektroskopie.cz](mailto:immss@spektroskopie.cz)) nejpozději do **28. února 2023**.

Vítězný návrh stanoví výbor Sekce hmotnostní spektrometrie SSJMM po konzultacích s odborníky v oblasti grafiky.

## Cena pro vítěze:

Peněžita odměna 10 000,- Kč

## Další podmínky:

Vyhlašovatel si vyhrazuje právo nevybrat žádný z předložených návrhů a neudělit cenu.

Autor vítězného návrhu dává SSJMM souhlas k plnému využití díla a přenechává jim veškerá práva z díla plynoucí.

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 116 (2022), čís./no. 11 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 146, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 132 • ISSN 0009-2770, ISSN 1213-7103 (e-verze) • evidenční číslo MK ČR E 321 • Vydává Česká společnost chemická jako časopis Asociace českých chemických společností ve spolupráci s VŠCHT Praha, s ČSPCH a ÚOCHB AV ČR za finanční podpory Rady vědeckých společností ČR, Akademie věd ČR, Nadace Český literární fond a kolektivních členů ČSCH • IČO 444715 • Published by the Czech Chemical Society • VEDOUČÍ REDAKTOR/EDITOR-IN-CHIEF: V. Vyskočil • REDAKTORI/EDITORS: J. Barek, E. Benešová, P. Drašar, P. Holý, P. Chuchvalec, M. Jurášek, Z. Kolská, B. Kratochvíl, J. Masák, J. Podešva, P. Šmejkal; Bulletin: P. Drašar; Webové stránky: R. Liboska, V. Vyskočil • ZAHRANIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTORI/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA) • TECHNICKÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: R. Řápková • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: K. Bláha, L. Červený, E. Dibuszová, L. Grubhoffer, J. Hanika, Z. Havlas, M. Hof, Z. Hostomský, J. Káš, M. Koman, P. Konvalinka, J. Kotek, J. Koubek, J. Málek, P. Matějka, K. Melzoch, V. Pačes, M. Pospíšil, V. Růžička, P. Slaviček, I. Stibor, V. Šimánek, J. Zima, T. Zima • ADRESA PRO ZASÍLÁNÍ PŘÍSPĚVKŮ/MANUSCRIPTS IN CZECH, SLOVAK OR ENGLISH CAN BE SENT TO: Chemické listy, Novotného Lávka 5, 116 68 Praha 1; tel./phone +420 221 082 370, e-mail: [chem.listy@csvts.cz](mailto:chem.listy@csvts.cz) • INFORMACE O PŘEDPLATNÉM, OBJEDNÁVKY, PRODEJ JEDNOTLIVÝCH ČÍSEL A INZERCE/INFORMATION ADS: Sekretariát ČSCH, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel. +420 221 082 383, e-mail: [chem.spol@csvts.cz](mailto:chem.spol@csvts.cz), [chem.ekonom@csvts.cz](mailto:chem.ekonom@csvts.cz) • PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL: <http://www.chemicke-listy.cz> • TISK: TG TISK s.r.o., 5. května 1010, 563 01 Lanškroun • SAZBA, ZLOM: ČSCH, Chemické listy • Copyright © 2022 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 180 Kč, roční plné předplatné 2022 (12 čísel) 1810 Kč, individuální členské předplatné pro členy ČSCH 900 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 96 EUR (doručování via SCHS), individuální členské předplatné pro členy ČSCH 73 EUR (doručování via SCHS), 96 EUR + poštovné (individuální doručování), ceny jsou uvedeny včetně DPH • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG • This journal has been registered with the Copyright Clearance Center, 2322 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923, USA, where the consent and conditions can be obtained for copying the articles for personal or internal use • Pokyny pro autory najdete na <http://www.chemicke-listy.cz>, zkratky časopisů podle Chemical Abstract Service Source Index (viz <http://cassi.cas.org/search.jsp>) • Chemické listy obsahující Bulletin jsou zasílány zdarma všem individuálním a kolektivním členům ČSCH a ČSPCH v ČR i zahraničí, do všech relevantních knihoven v ČR a významným představitelům české chemie a chemického průmyslu; v rámci dohod o spolupráci i členům dalších odborných společností • Molekulární námět na obálce: V. Spiwok • Dáno do tisku 31.10.2022.



# Švýcarský nůž analytiky

Inspirovaný věrností a spolehlivostí – to je nová éra SFC

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

## **Bezprecedentní stabilita tlaku zajistí přesná a reprodukovatelná data**

pomocí unikátního nízko-objemového regulátoru zpětného tlaku

## **Rychlejší průtoky, vyšší výkon a nižší náklady na analýzu**

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

**Automatizovaný proces vytváření metod**  
pro LC nebo SFC testování

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

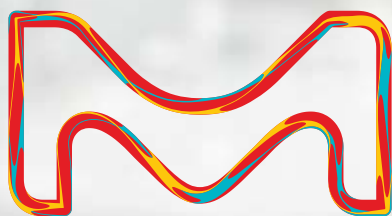


# Hydrogen on demand

H-Genie® Lite is the safest and most sustainable alternative to traditional hydrogen cylinders for supporting batch and balloon hydrogenation reactions in your chemistry lab. This portable, benchtop system generates 3.0 purity hydrogen on-demand from water and electricity using a patented electrolytic cell. Its minimal footprint ensures it will easily fit inside any fume hood. H-Genie® smart high pressure hydrogen generator eliminates the need for storage, handling, and replacing of hydrogen cylinders.

Simply click and go to start your hydrogenation process.

To find out more, visit [SigmaAldrich.com](http://SigmaAldrich.com)



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

**Sigma-Aldrich®**  
Lab & Production Materials