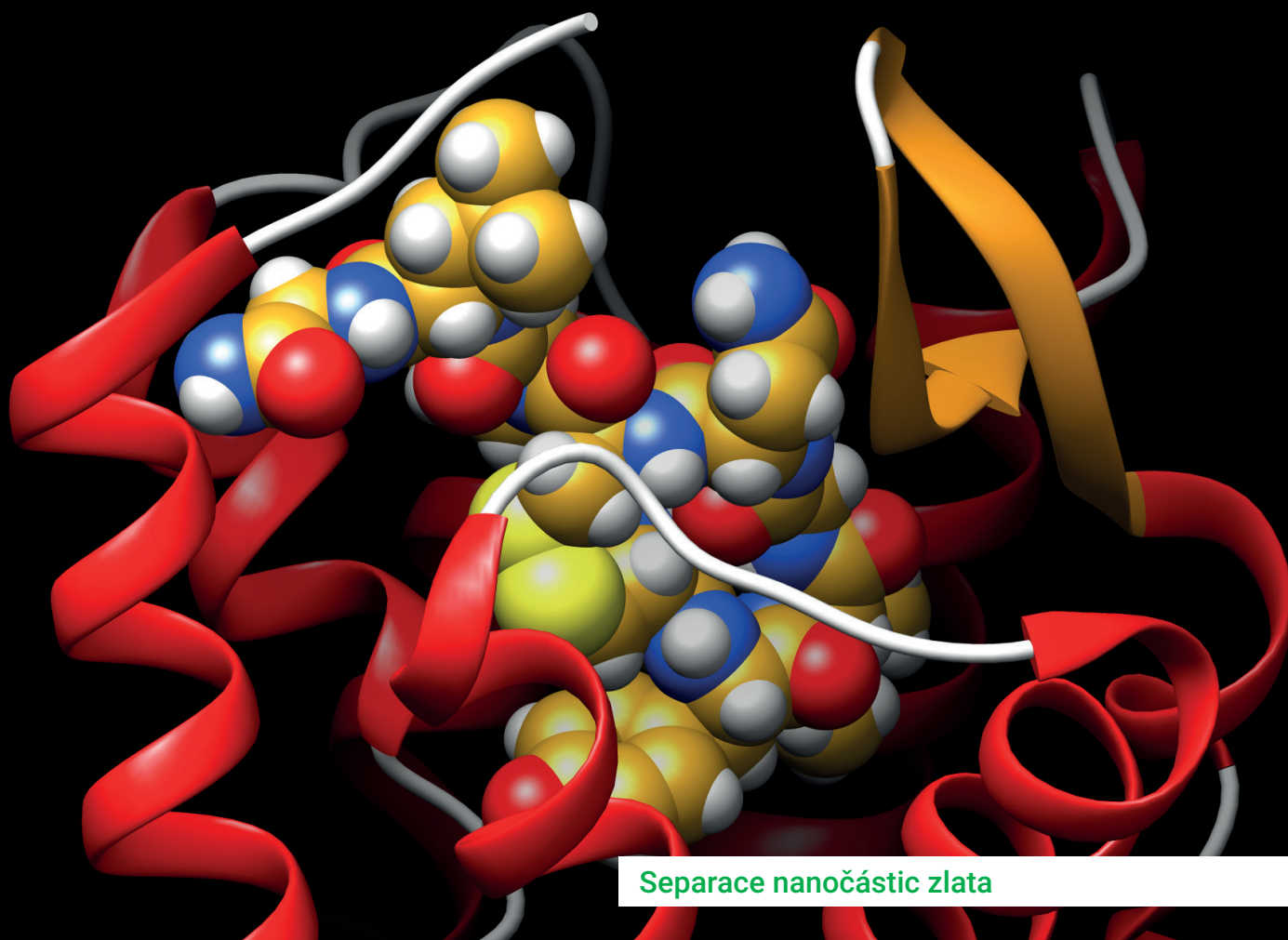


Chemické Listy

3

ročník • 117



Separace nanočástic zlata

Jasmonáty

Sledování mikrobiální nezávadnosti vod

Exkurze do chemických podniků



Excellence in Chemistry Research



Announcing our new flagship journal

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

Meet the Editors of *ChemistryEurope*



Luisa De Cola

Università degli Studi
di Milano Statale, Italy



Ive Hermans

University of
Wisconsin-Madison, USA



Ken Tanaka

Tokyo Institute of
Technology, Japan

O stylistice našich autorů

Jak již bylo vícekrát řečeno i napsáno, jedním z hlavních poslání Chemických listů je pečovat o český odborný jazyk, kterým se píše texty o chemii. Nechme protentokrát stranou správnost názvosloví a terminologie, jakož i ortografické detaily, a zaměřme se na to, jak se naši autoři vyjadřují, zda jsou jejich věty srozumitelné, jednoznačné a formulačně úsporné.

Není to tak dávno, co se v naší redakci vedla diskuse o tom, zda a do jaké míry mají redaktori zasahovat do autorské stylistiky. Část z nás prosazovala, že by redaktor měl autorovi ponechat jeho styl co nejméně dotčený a opravovat jen opravdu nesrozumitelná místa nebo vysloveně chybné vazby či přímo anakoluty („Oxytelulóza patří mezi jeden z nejrychleji degradujících polymerů.“). Prof. Bohumil Kratochvíl, v oné době náš šéfredaktor,razil pro tento přístup poetické heslo „nestírat autorům pel jejich vět“, jinými slovy, ponechat jim určitou originalitu.

Chtěl bych v tomto úvodníku na několika příkladech, nalezených v konkrétních člancích, ukázat, proč s tímto přístupem nemohu tak zcela souhlasit, a proč by redaktor někdy naopak měl tento „pel“ nemilosrdně setřít, pokud by původní formulace mohla vést třeba až k nedorozumění. Všechny níže uvedené citace jsou autentické. Jako redaktor si ale občas dovolím vzbouřit se proti autorově stylu i jen z čistě estetických důvodů, a navrhnou mu (jim) úpravu textu.

Tak např. slovní spojení „povolení k provedení klinického hodnocení“ je jistě srozumitelné a jednoznačné, ale příliš připomíná onen vtip o „provedení ošetření opruzení přirození“, parodující „zdeůřední“ češtinu. A přitom by stačilo napsat například „souhlas s klinickým hodnocením“.

Neesteticky a rušivě působí germanismy, kdy se dvě nebo i více předložek seřadí za sebou, kupříkladu „Pro v praxi používané...“ nebo „Do k tomuto účelu připraveného roztoku přidáme...“. Duchu češtiny daleko lépe vyhovuje „Do roztoku, připraveného k tomuto účelu, přidáme...“, i za cenu menší úspornosti.

Často narážíme na pleonasmy. Setkal jsem se s formulací „Vlivem působení tohoto činidla...“. Prosím: buď tedy „působením tohoto činidla“ nebo „vlivem tohoto činidla“!

Opakem pleonasmu je neúplná (nedostatečná) formulace. Napiše-li autor „...byl objeven až na přelomu 20. století...“, neví chudák čtenář, šlo-li o přelom 19/20 nebo 20/21. Pokud to sám neví ani redaktor, musí se většinou autora dotázat.

Co ale může čtenáře opravdu zmást, je např. tato zdánlivě nevinná věta: „Tyto děje mohou způsobit makroskopické defekty“. Není zřejmé, co je způsobeno čím!

V takových případech je nutné použít trpný rod, tedy třeba „Těmito ději mohou být způsobeny makroskopické defekty“, nebo naopak „Tyto děje mohou být způsobeny makroskopickými defekty“. Dost často se s tímto jevem setkávám i v renomovaných denících („...tyto zisky přinášejí výhody...“) – někdy člověk opravdu neví, jak to ten novinař myslel.

Občas se setkáváme s prohřešky proti lingvistické logice. Zlovykem mnoha autorů je chybné používání záporu: Věta „Laserová modifikace polymerních substrátů se neprojevuje vždy vznikem...“ by správně měla znít „Laserová modifikace polymerních substrátů se ne vždy projevuje vznikem...“. Opět – je to nešvar, běžný i v obecné publicistice.

Slovní spojení „zlepšování této hodnoty“ je také zavádějící. Hodnota buď roste nebo klesá, a z jejího „zlepšování“ se někdy dá jen stěží poznat, co je pro autora tou kýženou změnou.

Někdy ale redaktor neví, jestli použitá věta není náhodou zažitým odborným slangem, i když se jeví jako gramaticky nesprávná. V takovém případě je nutná opatrnost a někdy i domluva s autorem. Je polymerní fólie „exponována laserovým paprskem“ nebo „laserovému paprsku“? Člověk by řekl, že něco je vystaveno (exponováno) něčemu, ale kdovi, jak je to v praxi. Nebo: Je správně „...provedena depozice zlatem“ nebo „zlata“? V oboru makromolekulární chemie je takovým nesprávným, ale dávno zavedeným slovem „botnání“ (botnací tlak, botnací rovnováha, zbotnalý gel). Každému bohemistovi se zjeví vlasy, protože takové slovo v češtině neexistuje, pouze „bobtnání“. Dnes už ale asi nikdo změnu neprosadí, je to zabetonováno ve všech knihách i skriptech.

Často se setkáváme s anglicismy typu „NMR měření“, „HPLC výsledky“ apod. Připomíná to češtinu amerických Čechů („pojedu Ford károu do New York města“) nebo současný rádoby světácký marketing („Dopřejte si dovolenou v OREA rezortu!“). Doporučuji toto: pokud je zkratka v dotyčném výrazu snadno (např. pomocí přípony) upravitelná do tvaru přídavného jména, např. ultrafialové spektrum nebo polyvinylchloridová fólie, je možno použít i výraz UV spektrum, resp. PVC fólie. Pokud ne (těžko např. říci nukleárně-magneticko-rezonanční měření), je lepší dávat zkratku až za slovo, tedy „měření NMR“.

Nemohu radit svým kolegům-redaktorům, mají-li „vylepšovat“ češtinu při redigování rukopisů. Já chybnou gramatiku (a někdy i stylistiku) opravuji, a jen zcela výjimečně se mi stávalo, že některý autor protestoval. Mějme naši mateřštinu v úctě, a cit nám snad řekne, kdy máme zasáhnout, abychom ji ochránili.

Jiří Podešva

DETAILNEJŠÍ POHLED NA EXTRAČNÉ POSTUPY VHODNÉ NA SEPARÁCIU NANOČASTÍC ZLATA Z ENVIRONMENTÁLNYCH VÔD

INGRID HAGAROVÁ A LUCIA NEMČEK

Ústav laboratórneho výskumu geomateriálov, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, Slovensko
ingrid.hagarova@uniba.sk

Došlo 28.11.22, prijaté 16.1.23.

Nanočastice zlata (AuNP) nachádzajú využitie v stále sa rozširujúcom počte aplikácií, od vedeckého výskumu až po rôzne priemyselné procesy. S narastajúcim počtom aplikácií súvisí zvyšovanie ich koncentrácií v rôznych zložkách životného prostredia, čo následne vedie k zvýšenému záujmu, ktorý je týmto nanočasticami venovaný. Účinky AuNP na ľudské zdravie nie sú stále úplne pochopené, a tak získavanie spoľahlivých kvantifikačných údajov je dôležité pre posúdenie ich potenciálneho rizika, ktoré môžu predstavovať. K bežne publikovaným údajom zatiaľ nepatria ani len ich koncentrácie v prírodných a umelých vodných matriciach. Na získanie takýchto informácií používajú environmentálni chemici rôzne sofistikované analytické metódy, ktoré sú často veľmi drahé. Cieľom tohto článku je preto poukázať na analytický potenciál a výhody lacnejších a rovnako spoľahlivých alternatív, ktoré možno získať spojením zavedených extrakčných postupov s bežne dostupnými spektrometrickými metódami, ktoré možno použiť na kvantifikáciu ultrastopových koncentrácií AuNP v komplexných vodných matriciach. V texte sú diskutované obidva typy extrakčných postupov, extrakcie v systéme kvapalina-kvapalina ako aj extrakcie v systéme tuhá fáza-kvapalina. V tomto prehľade možno nájsť podrobnejší pohľad na rôzne typy interakcií, ktoré sú zodpovedné za schopnosť selektívne odseparovať AuNP zo zmesí, ktoré obsahujú rôzne iónové doprevádzajúce zložky, iónové formy zlata, iné nanočastice kovov alebo rozpustenú organickú hmotu. V práci sú uvedené aj príklady tolerančných limitov pre niektoré koexistujúce zložky. Praktické aplikácie extrakčných postupov, ktoré sú zhrnuté v tomto článku, boli zdokumentované analýzami reálnych environmentálnych matric, akými sú vodovodné, riečne, jazerné, minerálne a morské vody.

Kľúčové slová: extrakčné postupy, nanočastice zlata, iónové špecie zlata, separačné mechanizmy, potenciálne interferenty, rozpustená organická hmotu, environmentálne vody

Obsah

1. Úvod
2. Činidlá využívané v extrakčných postupoch na stabilizáciu nanočastíc zlata
3. Interakcie uplatňované v extrakčných postupoch pri separácii nanočastíc zlata
4. Štúdium interferencií pri vypracovávaní extrakčných postupov pre selektívnu separáciu nanočastíc zlata
 - 4.1. Selektívna separácia nanočastíc zlata v prítomnosti anorganických iónov bežne sa vyskytujúcich vo vodách
 - 4.2. Selektívna separácia nanočastíc zlata v prítomnosti ich iónových špecií
 - 4.3. Selektívna separácia nanočastíc zlata v prítomnosti nanočastíc iných kovov
 - 4.4. Selektívna separácia nanočastíc zlata v prítomnosti rozpustenej organickej hmoty
 - 4.5. Tolerančné limity pre vybrané potenciálne rušivé zložky prítomné vo vodách
5. Zhrnutie
6. Záver

1. Úvod

Za posledné tri desaťročia zaznamenali nanovedy a nanotechnológie značný rozvoj, počas ktorého bolo vyrobené veľké množstvo nanomateriálov rôzneho zloženia. Nanomateriály sa postupne adaptovali do rôznych oblastí priemyslu (najmä chemického, strojárenského, optického, elektronického, kozmetického, farmaceutického, potravinárskeho), ale aj poľnohospodárstva. K často využívaným patria nanočastice (nanoparticles, NP) kovov, medzi ktoré možno zaradiť nanočastice obsahujúce čistý kov (napr. Ag, Au, Pd, Pt, Zr a i.), nanočastice obsahujúce oxidy kovov (napr. TiO₂, ZnO, ZrO₂, CuO, Fe₃O₄ a i.), nanočastice obsahujúce iné zlúčeniny kovu (napr. sulfidy Ag₂S, FeS, MoS₂ a i.), ale aj iné nanočastice obsahujúce kovy (napr. kvantové bodky ako CdSe, ZnSe, CdTe a i.). Problematike nanočastíc kovov boli venované aj články publikované na stránkach tohto časopisu^{1–20}.

Na základe dostupných údajov získaných z rôznych bibliometrických databáz možno jednoznačne vyvodit', že z nanočastíc kovov je najväčšia pozornosť venovaná nanočasticami zlata (gold nanoparticles, AuNP) a striebra

(silver nanoparticles, AgNP). Dôvodom značnej pozornosti sú ich unikátne fyzikálno-chemické a optické vlastnosti a možnosť kontrolovanej syntézy. Počty publikácií venovaných AuNP mierne prevyšujú počet publikácií zaoberajúcich sa problematikou AgNP. Po zadaní kľúčových slov „gold nanoparticles“ a „review article“, sa napríklad len v databáze WOS objaví takmer tisíc prehľadových článkov publikovaných v roku 2022. Väčšina z nich je zameraná na využitie AuNP v medicíne, početná časť z publikovaných prehľadov opisuje rôzne metódy použité na (bio)syntézu AuNP, a nemalá časť príspevkov popisuje výhody využívania AuNP v rôznych optických senzorochoch.

Cieľom tohto prehľadu je poskytnúť čitateľovi podrobnejšie informácie o selektívnej separácii AuNP z reálnych kvapalných matric rozdielnej komplexity so zameraním sa na extrakčné postupy, ktoré boli doposiaľ bežne využívané predovšetkým na separáciu rôznych anorganických zložiek (katiónov alebo aniónov) alebo organických látok (najmä organických polutantov a bioaktívnych organických molekúl). Uvedené budú príklady rozličných prevedení extrakcie v systéme kvapalina-kvapalina (liquid-liquid extraction, LLE), vrátane extrakcie s využitím teploty zákalu micelárnych roztokov (cloud point extraction, CPE), ako aj rôzne prevedenia extrakcie v systéme tuhá fáza-kvapalina (solid phase extraction, SPE). Z dostupných publikácií sú v prehľade zahrnuté práce, v ktorých bol sledovaný analyt kvantifikovaný spektrometricky po jeho separácii a nakoncentrovaní pomocou niektorej z extrakčných techník. Zo spektrometrických metód to sú nasledovné: elektrotermická atómová absorpčná spektrometria (ETAAS), hmotnostná spektrometria s indukčne viazanou plazmou (ICP-MS), UV-Vis spektrofotometria (UV-Vis), spektrometria využívajúca povrchovú plazmónovú rezonanciu (SPR) a spektrometria využívajúca optický nekoherentný rozptyl svetla (OILS).

V nasledujúcich častiach si dovoľíme (1) zhrnúť typy činidiel využívaných na stabilizáciu AuNP v doposiaľ publikovaných extrakčných postupoch; (2) popísať typy interakcií zodpovedných za možnosť selektívne separovať AuNP zo zmesi obsahujúcej rôzne doprevádzajúce ióny, nanočastice iných kovov alebo rozpustenú organickú hmotu (jej prítomnosť bola v experimentoch simulovaná prídavkami humínových kyselín); a (3) uviesť príklady tolerančných limitov publikovaných pre vybrané doprevádzajúce zložky prítomné v analyzovanom roztoku.

2. Činidlá využívané v extrakčných postupoch na stabilizáciu nanočastíc zlata

Hoci sú AuNP považované za najstabilnejšie spomedzi všetkých nanočastíc kovov^{21,22}, ich používanie je často podmienené ich modifikáciou pomocou vhodného stabilizačného činidla. Vyplýva to zo snahy eliminovať tendenciu AuNP tvoriť agregáty, keďže tento proces vedie k zmene ich fyzikálno-chemických vlastností. Ako príklad môžeme uviesť zmenu v absorpčných spektrách, ktorú je možné pozorovať aj vizuálne, nakoľko je sprevádzaná

zmenou sfarbenia roztokov²³.

Stabilizácia AuNP zohráva dôležitú úlohu aj pri vypracovávaní extrakčných postupov, ktoré vedú k ich efektívnej separácii. Obalenie nanočastíc malými pozitívne alebo negatívne nabitými molekulami patrí k bežne používaným postupom na elektrostatickú stabilizáciu nanočastíc²⁴. Najčastejším činidlom používaným na stabilizáciu AuNP je citrát obsahujúci karboxylové skupiny. Citrátom stabilizované AuNP (cit-AuNP) majú nižší zeta potenciál a citrát predstavuje menšie molekuly v porovnaní s polymérnymi molekulami ako napríklad polyvinylpyrolidón (PVP) alebo polyvinylalkohol (PVA) (cit.²⁵), ktorými je tiež možné AuNP stabilizovať. V prípade veľkých molekúl, akými sú PVP a PVA, netreba zabúdať na sterické odpudivé sily, ktoré môžu v niektorých prípadoch predstavovať problém, a ktoré je nutné zohľadniť pri vypracovávaní efektívnych extrakčných postupov. Ďalším činidlom vhodným na stabilizáciu AuNP je cysteín (cys-AuNP). Aj napriek tomu, že cysteín obsahuje karboxylovú skupinu rovnako ako citrát, vo svojej molekule má zároveň aj amóniovú skupinu, ktorá môže byť za určitých podmienok nabitá kladne, čo môže byť nežiadúce, ak sa na separáciu použije napríklad kladne nabitý sorbent.

V disperznej extrakcii tuhou fázou (dispersive solid phase extraction, DSPE), kde bola ako sorbent použitá sulfátom modifikovaná nanocelulóza (s-NC), nebolo možné vypracovať efektívny separačný postup bez stabilizácie AuNP pomocou katiónových tenzidov; konkrétne cetyltrimetylamónium-bromidu (CTAB) a cetyltrimetylamóniumchloridu (CTAC) (cit.²⁵). V prítomnosti tenzidov nebola zistená žiadna zjavná agregácia AuNP, pričom dosiahnuté výsledky boli pri obidvoch látkach podobné. K efektívnej separácii AuNP dopomohla jednak stabilizácia AuNP v prítomnosti použitého tenzidu, ako aj posilnenie vzájomných interakcií medzi použitým sorbentom a AuNP (cit.²⁵).

Pozitívnu funkciu plnili CTAB a CTAC aj v prípade kvapalinovej mikroextrakcie (microliquid-liquid extraction, μ LLE), kde sa ako extrakčné činidlo využila iónová kvapalina tvorená 1-butyl-3-metylimidazoliumhexafluórofosfátom (BMIM PF₆) (cit.²⁶). Po zistení, že sa cit-AuNP zhlukujú v medzivrstvovom priestore medzi iónovou kvapalinou a vodou, bolo potrebné na dosiahnutie pozitívnych výsledkov zvoliť iný typ stabilizácie. Použitie katiónových tenzidov sa ukázalo ako vhodná alternatíva. V prvom kroku micely vytvorené z použitého tenzidu reagovali s AuNP vo vodnom prostredí, pričom došlo k obaleniu nanočastíc micelami, a v druhom kroku boli takto zastabilizované AuNP extrahované do iónovej kvapaliny s využitím ión-párovej interakcie s hexafluórofosfátom, aniónom iónovej kvapaliny.

Pri extrakcii AuNP s využitím magnetického sorbentu Fe₃O₄@SiO₂@IDA-Al³⁺ v magnetickej extrakcii tuhou fázou (magnetic solid phase extraction, MSPE) boli testované štyri typy stabilizačných činidiel; citrát sodný, kyselina 11-merkaptoundekánová (MUA), PVP a CTAB (cit.²¹). Extrakčné výťažnosti pre AuNP zastabilizované uvedenými činidlami sa zisťovali v prítomnosti kyseliny

merkaptosukcínovej (MSA) a bez nej. Bez použitia MSA bola extrakčná výťažnosť nad 98 % dosiahnutá iba v prípade AuNP stabilizovaných pomocou MUA, pre ostatné stabilizačné činidlá sa extrakčné výťažnosti pohybovali medzi 65–80 %. V prítomnosti MSA boli dosahované extrakčné výťažky > 85 % bez ohľadu na použitú stabilizačnú metódu²¹.

Všeobecné tvrdenie, ktoré hovorí o tom, že ak je v extrakcii s využitím teploty zákalu micelárných roztokov (CPE) separovaná zlúčenina dostatočne hydrofóbná, jej ukotvenie do hydrofóbného jadra micely vytvorenej z molekúl neiónového tenzidu by malo mať hladký priebeh a takáto zlúčenina by mala byť odseparovaná v tenzidom obohatenej fáze s takmer stopercentnou účinnosťou, nebolo potvrdené v práci publikovanej dvojicou El Hadri a Hackley²⁷. Porovnanie dvoch stabilizačných činidiel, PVP a humínových kyselín (HA) s citrátom ukázalo, že napriek očakávanej efektívnej extrakcii PVP-AuNP a HA-AuNP (keďže sú vďaka dlhému uhlíkovému reťazcu hydrofóbnejšie) boli pri extrakcii samotným Tritonom X-114 efektívnejšie extrahované cit-AuNP (70–90 %). Z daných zistení je zrejme, že účinná separácia pomocou CPE nezávisí výlučne od hydrofobicity separovanej zlúčeniny, inak by pri PVP-AuNP a HA-AuNP boli extrakčné výťažnosti vyššie než len 10–35 %. Podľa všetkého je jedným z kľúčových parametrov aj veľkosť molekuly použitého stabilizačného činidla. Extrakčné výťažnosti sa pohybovali v intervale 70–105 % pri všetkých typoch spomenutých stabilizačných činidiel v prípade, že bol použitý Triton X-114 spolu s prídavkom NaCl. Výťažnosti v rozmedzí 85–100 % boli dosiahnuté pre všetky typy uvedených stabilizačných činidiel ak bola s Tritonom X-114 pridaná aj EDTA. Prídavok solí môže viesť jednak k modifikácii teploty potrebnej na vytvorenie zákalu, ale môže viesť aj k uľahčeniu separácie dvoch fáz (tenzidom obohatenej fázy a vodnej fázy), pretože dochádza k zmene hustoty vodnej fázy. Je vysoko pravdepodobné, že druhý spomenutý dôvod, ktorý mohol dopomôcť k dôkladnejšej separácii fáz, má za následok mierne navýšenie dosahovaných extrakčných výťažností v uvedenej práci.

Separácia AuNP s využitím extrakcie tuhou fázou v kolónovom usporiadaní, pri ktorej bola použitá reverznofázová náplň obsahujúca C18 (RP-C18), sa ukázala byť účinnou pre nanočastice stabilizované citrátom, MUA, MSA a tetraoktyl amónium bromidom (TOAB). V týchto prípadoch sa extrakčné výťažnosti pohybovali medzi 83–99 %. Pri použití stabilizácie neiónovým tenzidom Tween 20 bolo viac ako 46 % nanočastíc kvantifikovaných v roztoku, ktorý bol získaný po pretečení kolónou. Toto vysoké percento jednoznačne signalizovalo, že takáto stabilizácia AuNP nie je vhodná pri extrakčnom postupe, ktorý využíva RP-C18 (cit.²⁸).

Ak sa na separáciu použil aniónovo-výmenný sorbent Amberlite IRN-78 obsahujúci kladne nabitú amóniovú skupinu, miera výťažnosti pre nanočastice stabilizované citrátom, PVP₁₀ a TOAB, a zároveň modifikované aj prídavkom MSA, sa pohybovala medzi 85–105 %. Problém

nastal pri stabilizácii s použitím PVP₄₀, kedy výťažky klesli pod 36 %, a to aj v tom prípade, ak boli nanočastice modifikované prídavkom MSA (cit.²⁹).

V kapilárnej mikroextrakcii (capillary microextraction, CME) využívajúcej metylakrylamidový polymér bola porovnaná extrakčná výťažnosť pre tri typy nanočastíc, cit-AuNP, MSA-AuNP a MUA-AuNP. Pri optimálnych extrakčných podmienkach výťažky dosahovali 85–90 % pre všetky uvedené typy nanočastíc³⁰.

Excelentné výťažky v rozmedzí 90–96 % priniesla metóda *in-situ* mikroextrakcie suspendovaných agregátov (*in-situ* suspended aggregate microextraction, iSAME) pre všetky typy študovaných AuNP, konkrétne cit-AuNP, PVP₁₀-AuNP a cys-AuNP (cit.³¹).

3. Interakcie uplatňované v extrakčných postupoch pri separácii nanočastíc zlata

Presne odhadnúť typ interakcií, ktorý je zodpovedný za efektívnu separáciu AuNP, je niekedy veľmi obtiažne, často je možné očakávať „súperenie“ medzi fyzikálnymi a chemickými javmi. Pri použití magnetického sorbentu Fe₃O₄@SiO₂@IDA–Al³⁺ je opísaných niekoľko rôznych interakcií, ktoré sú zodpovedné za kvantitatívnu adsorpciu AuNP stabilizovaných MUA a súčasne modifikovaných MSA. V kyslom prostredí s pH 2–4 bola rozhodujúca chelácia medzi karboxylovými skupinami MSA a Al³⁺ imobilizovanom na použitom sorbente (Fe₃O₄@SiO₂@IDA), a zároveň pôsobenie van der Waalsových síl medzi MSA a nadbytočným Fe₃O₄@SiO₂@IDA (cit.²¹). V tomto prípade je možné adsorpciu označiť ako kvantitatívnu. V prostredí s pH 4–9 dochádzalo s narastaním koncentrácie [OH⁻] k zvýšenej hydrolyze Al³⁺, čo viedlo k znižovaniu efektívnej adsorpcie a následnému poklesu extrakčných výťažností.

V literatúre sa pre nulový náboj cit-AuNP (pH_{PZC}) uvádza pH okolo 2 (cit.³²), zatiaľ čo pre magnetické nanočastice Fe₃O₄NP sa hodnoty pH pre ich nulový náboj pohybuje v rozmedzí 6,2–6,9 (cit.³³). Na základe uvedeného bolo možné očakávať, že pri použití „surového“ magnetického sorbentu Fe₃O₄NP budú prevládať elektrostatické interakcie medzi negatívne nabitými AuNP a pozitívne nabitými Fe₃O₄NP. Táto hypotéza sa však nepotvrdila a samotné elektrostatické interakcie neboli postačujúce na efektívnu extrakciu AuNP; napomohol až prídavok externého činidla. Z testovaných činidiel (citrát sodný, tetrahydroboritan sodný a kyselina askorbová) boli pozitívne výsledky dosiahnuté v prítomnosti kyseliny askorbovej, ktorá bola následne použitá v optimalizovaných extrakčných postupoch³⁴. V prítomnosti kyseliny askorbovej došlo k zvýšeniu iónovej sily, čo pravdepodobne viedlo k agregácii AuNP na povrchu magnetickej fázy (Fe₃O₄NP). Tento pozitívny účinok autori pripisujú zmenšeniu Debye-ovej dĺžky pri vysokej koncentrácii iónov^{34,35}.

Látky známe ako podvojný vrstevnaté hydroxidy (layered double hydroxides, LDHs) našli uplatnenie

v rôznych priemyselných oblastiach a vďaka svojim vynikajúcim sorpčným vlastnostiam vystupujú aj ako sorbenty v remediálnych procesoch. Práve táto ich schopnosť sorbovať rozličné polutanty, akými sú anorganické anióny, rádionuklidy, ióny rôznych ťažkých kovov, organické farbivá, antibiotiká, a mnohé iné organické zlúčeniny, viedla k snahám o ich analytické využitie v extrakčných postupoch na separáciu a prekoncentráciu rôznych analytov. Pre vysvetlenie predpokladaných interakcií medzi AuNP a LDHs je dôležité poznať ich chemické zloženie. Všeobecne sa často uvádza vzorcom: $[(M^{II})_{1-x}(M^{III})_x(OH)_2]^{x+}(A^{n-})_{x/n} \cdot mH_2O$, kde M^{II} predstavuje dvojmocný kation a M^{III} trojmocný kation, ktoré sú oktaedricky koordinované v hydroxidových vrstvách, a A^{n-} označuje vymeniteľný anión^{36,37}. Choleva a Giokas³⁸ použili na separáciu AuNP LDHs pripravené zo zmesi dusičnanu horečnatého a dusičnanu hlinitého. V prípade aplikácie tohto sorbentu boli pre separáciu rozhodujúce elektrostatické interakcie medzi záporne nabitými cit-AuNP a kladne nabitými LDHs. Zvýšenie iónovej sily analyzovaného roztoku po pridaní anorganického elektrolytu (prídavok $NaNO_3$) viedlo k poklesu extrakčných výťažností, čo je možné vysvetliť dvoma spôsobmi. Buď došlo k eliminácii negatívneho povrchového náboja AuNP, čo mohlo následne viesť k agregácii nanočastíc a k zníženiu ich elektrostatických interakcií s kladne nabitým povrchom LDHs, alebo mohlo dôjsť k ovplyvneniu štruktúry a morfológie LDHs a/alebo aj k adsorpcii nadbytočného množstva aniónov na kladne nabitý povrch LDHs. Pôsobenie predpokladaných mechanizmov bolo potvrdené pokusmi, pri ktorých bolo v prvom prípade $NaNO_3$ pridané pred samotnou tvorbou LDHs, a v druhom prípade až následne, po vytvorení LDHs a pridaní AuNP. Pri prvom type experimentu bolo pozorované výraznejšie zníženie extrakčnej účinnosti v porovnaní so situáciou, keď bolo $NaNO_3$ pridané až po vzniku LDHs a naviazaní AuNP.

Pre využitie nanocelulózy (NC) ako efektívneho sorbentu pre AuNP v DSPE je potrebná jej povrchová modifikácia. Porovnanie dvoch rozdielnych funkčných skupín naviazaných na povrchu NC, a to sulfónových (s-NC) a karboxylových (c-NC), prinieslo pozitívne výsledky len pre s-NC modifikáciu. Rozhodujúcu úlohu tu zohrávali funkčné skupiny obsahujúce síru a ich schopnosť viazať Au (cit.²⁵). Vyššia afinita síry k atómu Au v prípade iných zlúčenín, napr. tiolov alebo disulfidov, bola využitá pri elúcii AuNP po ich naviazaní sa na s-NC. Z testovaných disulfidov boli pozitívne výsledky získané po použití vodného roztoku sodnej soli kyseliny lipoovej. Kvantitatívna elúcia AuNP z povrchu s-NC bola dosiahnutá za krátky čas.

Špeciálny typ extrakcií založený na tvorbe supramolekulových agregátov, ktorý využíva ión-párové interakcie medzi kationovým tenzidom a derivátom kyseliny sulfónovej, možno nájsť pod názvom *in-situ* mikroextrakcia suspendovaných agregátov (iSAME). Pri iSAME postupe, v ktorom boli použité cetyltrimetyl amónium bromid a kyselina sulfosalicylová, dochádzalo k vzniku komplikovanejších agregátov označovaných ako multilamelárne vezikuly³¹. Autori pripisujú možnosť separácie AuNP z analyzovaného roztoku skutočnosti, že pri separačnom

processe prevládajú fyzikálne javy nad chemickými. Prvým pravdepodobným mechanizmom je včlenenie AuNP do jadier vzniknutých vezikúl ešte počas spontánneho zhrmažďovania sa, ktoré prebieha *in-situ* v kvapalnej vzorke. Keďže veľkosť vezikúl je obmedzená (pohybuje sa medzi 0,4–0,5 μm), nie všetky AuNP môžu byť zachytené v ich jadrách. Veľkosť nepolárnej dvojvrstvy vezikulárnych agregátov autori odhadujú na 0,15 nm, čo túto oblasť vylučuje ako pravdepodobnú časť vezikuly, do ktorej by mohli byť AuNP včlenené, nakoľko je oveľa menšia ako priemerná veľkosť separovaných AuNP. Sekundárny mechanizmus pre kvantitatívnu separáciu AuNP podľa autorov spočíva v zadržaní vezikúl na povrchu filtra pri separácii fáz pomocou filtrácie, pričom dochádza k vytvoreniu tenkého filmu. Tento tenký film je prakticky trojrozmernou vrstvou supramolekulových agregátov, ktorá dokáže fyzicky zachytiť AuNP zostávajúce v roztoku.

Ďalšou z interakcií, ktorá bola využitá pri extrakcii AuNP, je nekovalentná reverzibilná adsorpcia na iónovovýmenný sorbent Amberlite IRN-78 obsahujúci kladne nabitú amóniovú skupinu²⁹. Pre účely tejto štúdie boli AuNP modifikované naviazaním MSA. MSA predstavuje bifunkčný ligand, ktorý bol na AuNP naviazaný cez svoju tiolovú skupinu, pričom dve karboxylové skupiny ostali voľné. V zásaditom prostredí sú karboxylové kyseliny deprotonizované, čím sa stávajú záporne nabitú a vytvárajú tak niečo ako záporne nabitý obal. Takto modifikované AuNP vstupujú do interakcie s kladne nabitými amóniovými skupinami použitého sorbentu a sú ním zadržané. Kvantitatívna desorpcia bola dosiahnutá s využitím roztoku kyseliny mravčej v metanole. Pozitívom daného postupu je aj možná regenerácia použitého sorbentu po jeho kondicionácii najskôr roztokom HCl a následne roztokom NaOH. Autori okrajovo spomínajú aj iný typ interakcií, a to van der Waalsove interakcie medzi sorbentom a nanočasticami, ktoré sa uplatnili pri zadržaní nemodifikovaných častíc a prispeli k extrakčným výťažkom pohybujúcim sa v rozmedzí 30–40 %.

Pri metóde kapilárnej mikroextrakcie, kedy bol na separáciu použitý hydrofilný metyl-akrylamidový polymer, bola zásadnou podmienkou pre vypracovanie efektívneho postupu prítomnosť karboxylových skupín cit-AuNP, ktoré boli schopné disociovať za vzniku karboxylového aniónu³⁰. Pre hladký priebeh sorpcie AuNP na povrchu monolitu sa tak stali rozhodujúce elektrostatické interakcie (v relatívne širokom rozmedzí pH 3–6), ale aj vodíkové väzby, ktoré vznikali medzi karboxylovými skupinami a akrylamino skupinami použitého polyméru. Schopnosť tiolových skupín vstupovať do interakcie s AuNP bola využitá pri elúcii nanočastíc. Z dvoch činiteľov (cysteín a cysteamín), pri ktorých boli dosiahnuté pozitívne výsledky, bol nakoniec v optimalizovaných extrakčných postupoch použitý cysteamín. Bol zvolený vďaka svojej väčšej rozpustnosti, ale aj vďaka tomu, že cysteín obsahuje okrem tiolovej skupiny a aminoskupiny aj karboxylovú skupinu, čo môže za určitých podmienok viesť k agregácii AuNP v dôsledku vzniku medzimolekulových vodíkových väzieb.

4. Štúdium interferencií pri vypracovávaní extrakčných postupov pre selektívnu separáciu nanočastíc zlata

Interferenčné štúdie zamerané na selektívnu separáciu AuNP s využitím extrakčných postupov zahŕňali analýzu vplyvov rôznych anorganických kationov a aniónov bežne sa nachádzajúcich vo vodách, vplyvov doprevádzajúcich iónových foriem zlata (Au^{3+} , Au^+), vplyvov niektorých iných nanočastíc kovov (AgNP, TiO_2NP , PdNP, ZnONP) a vplyvu rozpustenej organickej hmoty (ktorej prítomnosť bola modelovaná pridaním humínových kyselín).

4.1. Selektívna separácia nanočastíc zlata v prítomnosti anorganických iónov bežne sa vyskytujúcich vo vodách

Na základe prehľadu literatúry a publikovaných výsledkov je možné mierne zovšeobecniť, že koncentrácie anorganických iónov (či už kationov alebo aniónov) bežne sa nachádzajúcich v prírodných vodách nepredstavovali vážne problémy pri selektívnej separácii AuNP v optimalizovaných extrakčných postupoch. Toto zovšeobecnené tvrdenie však neplatí, ak boli použité LDHs (cit.³⁸). LDHs predstavujú kladne nabitý sorbent, pri ktorom iónová sila analyzovaného roztoku je jedným z rozhodujúcich parametrov vplývajúcich na extrakčné výťažnosti. V prítomnosti vysokých koncentrácií anorganických iónov boli dosahované znížené extrakčné výťažnosti (vysvetlenie predpokladaných mechanizmov, ktoré viedli k zníženiu účinnosti extrakcie, je opísané v predchádzajúcej kapitole). Toto pozorovanie viedlo k záveru, že extrakčný postup využívajúci LDHs je určite vhodný pre vodné vzorky s nízkou iónovou silou (napr. riečne a jazerné vody), pričom pri vodách s vysokou koncentráciou solí (napr. morské a silno mineralizované minerálne vody) treba očakávať znížené extrakčné výťažnosti³⁸.

Vysoké koncentrácie solí v minerálnych vodách nepredstavovali problém v CPE postupe, pri použití ktorého boli dosahované kvantitatívne extrakčné výťažnosti³⁹. Analýza morských vôd však už problematická bola, pričom extrakčné výťažnosti sa v tomto type vzoriek pohybovali okolo 50 %. Túto komplikáciu pomohla vyriešiť kalibrácia metódou prídavku štandardu, pri použití ktorej došlo ku korekcii získaných výsledkov.

4.2. Selektívna separácia nanočastíc zlata v prítomnosti ich iónových špecií

Ukázalo sa, že kladne nabitý LDHs sú schopné extrahovať AuNP spolu s ich iónovými špeciami, pričom elektrostatické interakcie medzi AuNP a LDHs boli rozhodujúce pri naviazaní AuNP, a za naviazanie Au^{3+} boli zodpovedné iónovo-výmenné reakcie³⁸. Separácia spomenutých špecií (AuNP a Au^{3+}) bola uskutočnená pomocou ultracentrifugácie. LDHs s naviazanými extrahovanými zložkami boli rozpustené v HCl a táto zmes bola následne podrobená ultracentrifugácii (18 000 rpm). AuNP sa usadili

na kónickom dne laboratórnej nádoby, pričom spoluextrahované zložky zostali v supernatante.

Spoluextrahované iónové formy zlata predstavovali vážny problém pri disperznej mikroextrakcii pomocou povrchovo aktívnej látky v systéme kvapalina-kvapalina (surfactant assisted dispersive liquid liquid microextraction, SA-DLLME)⁴⁰, ale aj pri extrakcii s využitím teploty zákalu micelárnych roztokov⁴¹. Na separáciu Au^{3+} od AuNP bol v oboch prípadoch použitý $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, ktorý dokázal zredukovať Au^{3+} na Au^+ a následne vytvorený komplex $[\text{Au}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]^{3-}$ sa nedostal do extrakčnej fázy ani v jednom zo spomenutých prípadov. Tým, že uvedený komplex zostal vo vodnej fáze, bolo možné selektívne odseparovať AuNP od ich iónových špecií.

V optimalizovanom extrakčnom postupe, ktorý zahŕňal použitie magnetického sorbentu $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{IDA}-\text{Al}^{3+}$, bolo možné extrahovať spoločne s AuNP aj Au^{3+} ióny modifikované prídavkom MSA (MSA-Au a MSA-AuNP)²¹. Selektívna separácia týchto dvoch špecií bola uskutočnená s využitím sekvenčnej elúcie. Prvý krok spočíval v aplikácii $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ za účelom elúcie iónových foriem zlata, v druhom kroku boli zo sorbentu vymyté AuNP s použitím roztoku amoniaku. Dosiagnuté výťažky boli naozaj výnimočne vysoké, až 97,5 % pre MSA-Au pri elúcii pomocou $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (a 4,2 % pri použití amoniaku) a 95,4 % pre MSA-AuNP pri použití roztoku amoniaku (a 0,4 % pri použití $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$).

Extrakčné výťažnosti presahovali 100 % (v priemere boli vyššie o 15 %), ak bola zvolenou metódou CPE a jej účinnosť sa posudzovala na modelových roztokoch obsahujúcich AuNP, Au^{3+} a presne známu koncentráciu humínových kyselín (15 mg l^{-1}) (cit.⁴²). 15 % navýšenie extrakčných výťažností autori pripisujú vytváraniu komplexov medzi Au^{3+} a HA, ktoré boli čiastočne extrahované do micelárnej fázy (t.j. časť Au^{3+} prešla do micelárnej fázy v neiónovej forme). Eliminácia problematických percent nadhodnocujúcich skutočné extrakčné výťažnosti bola možná pomocou zmesi tiosíranu sodného a nasýteného roztoku EDTA, ktorý bol pridaný do analyzovaného roztoku ešte pred pridaním Tritonu X-114 (v úlohe extrakčného činidla).

Iónové špecie Au^{3+} nepredstavovali problém pri metóde dvojkrokovej extrakcie, kde v prvom kroku bola použitá reverzno-fázová kolóna obsahujúca náplň C18 (RP-C18) a v druhom kroku bol sorbent so zachytenými nanočasticami extrahovaný roztokom 1-dodekántiolu (1-DDT), ktorý bol pripravený v chloroforme²⁸. Testovanie modelových roztokov potvrdilo prítomnosť > 90 % Au^{3+} v roztoku po pretečení kolónou a len < 3,5 % z adsorbovaných iónov bolo následne extrahovaných do 1-DDT v chloroforme. V konečnom dôsledku bolo týmto dvojkrokovým extrakčným postupom extrahovaných menej ako 0,35 % z celkového množstva Au^{3+} iónov.

Vhodne zvolené pH (5,5) bolo rozhodujúcim faktorom, ktorý umožnil selektívne separovať AuNP v prítomnosti ich iónových špecií v kapilárnej mikroextrakcii s využitím metyl-akrylamidového polyméru³⁰. Pri pH v rozmedzí 2–6 nebola pozorovaná žiadna sorpcia

iónových špecií na použitý polymér. Mierny nárast sorpcie iónových špecií pri $\text{pH} > 6$ bol pripísaný pravdepodobnej hydrolyze voľných iónov v alkalickom prostredí.

4.3. Selektívna separácia nanočastíc zlata v prítomnosti nanočastíc iných kovov

Takmer v každej publikovanej práci venovanej optimalizácii extrakčného postupu na separáciu AuNP je časť interferenčných štúdií orientovaná na nanočastice iných kovov. Z nich sú často ako modelové interferenty zvolené TiO_2NP a AgNP , no možno sa stretnúť aj s prácami zameranými na testovanie vplyvu ZnONP a PdNP na selektivitu vypracovaného extrakčného postupu, ktorý spolu s použitou detekčnou metódou viedol k získaniu spoľahlivých výsledkov. V niektorých prípadoch práve aplikovaná detekčná metóda umožnila selektívnu kvantifikáciu AuNP.

Modelový interferent TiO_2NP , ktorý bol použitý pri posudzovaní možných interferencií v CPE postupe⁴¹, mal zanedbateľný vplyv na extrakciu AuNP aj pri pomerne vysokej koncentrácii (50 mg l^{-1}), pričom modelový roztok obsahoval vždy $0,5 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ AuNP a prídavky TiO_2NP sa pohybovali v koncentráciách medzi $0,5$ až 50 mg l^{-1} . V poslednom testovanom modelovom roztoku bol tak nadbytok TiO_2NP až 10 000 násobný. Modelový interferent AgNP nepredstavoval žiadny problém pri SA-DLLME (cit.⁴⁰), napriek jeho 100 násobnému nadbytku v porovnaní s koncentráciou AuNP (modelový roztok obsahoval $1 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ AuNP a $100 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ AgNP).

TiO_2NP a plazmónové AgNP (stabilizované citrátom) boli odskúšané ako modelové interferenty v práci, kde bola kvantifikácia AuNP uskutočnená pomocou povrchovej plazmónovej rezonancie (surface plasmon resonance, SPR)²⁵. Pri optimálnych extrakčných podmienkach boli obidva typy potenciálnych interferentov sorbované na použitý sorbent (s-NC) spolu s AuNP, no v elučnom kroku boli vymyté iba plazmónové AgNP a plazmónové AuNP. Na elúciu nanočastíc zo sorbentu bol zvolený vodný roztok sodnej soli kyseliny lípovej. Plazmónové nanočastice v elučnom roztoku navzájom nevstupovali do interakcie a selektívna kvantifikácia AuNP bola možná vďaka prítomnosti silných absorpčných SPR pásov detekovaných pre tieto nanočastice pri rôznych vlnových dĺžkach; AgNP pri cca 400 nm a AuNP pri 527 nm.

Nanočastice typu cit- AgNP a ZnONP boli vybrané ako modelové interferenty pri overovaní selektivity vypracovaného CPE postupu, na ktorý nadväzovala detekcia využívajúca optický nekoherentný rozptyl svetla (OILS) nanohybridnej sústavy tvorenej vodíkovými väzbami medzi AuNP a ditiotriolom funkcionalizovanými kvantovými bodkami CdS (CdS@DTT) (cit.⁴²). Uvedená detekčná metóda bola značne nápomocná pri vypracovaní selektívneho postupu. ZnONP ani v koncentrácii rádo vo dvakrát vyššej než bola koncentrácia AuNP neovplyvnili ich kvantifikáciu, čo možno pripísať nedostatku aktívnych skupín na povrchu ZnONP , ktoré by teoreticky mohli prekážať pri vytváraní vodíkových väzieb cit-AuNP s kvantovými

bodkami CdS@DTT počas detekcie. To však neplatilo pre cit- AgNP . Tieto nanočastice spôsobovali komplikácie už pri analýze modelových roztokov obsahujúcich ekvimolárne pomery cit- AgNP a cit-AuNP. Do tenzidom obohatenej fázy, ktorá bola získaná po aplikácii CPE postupu, sa dostali spolu s cit-AuNP aj cit- AgNP . Kvantifikácia s využitím OILS bola v tomto prípade tiež problematická, keďže cit- AgNP obsahovali dostatok funkčných skupín pripravených vytvárať vodíkové väzby s kvantovými bodkami CdS@DTT . Na elimináciu tohto problému bol k tenzidom obohatenej fáze získanej po extrakcii pridaný H_2O_2 , pričom AgNP boli úplne rozpuštené za vzniku Ag^+ iónov⁴³. CPE postup sa potom znovu zopakoval bez dodatočného prídavku Tritonu X-114 (roztok obsahoval takmer pôvodné množstvo surfaktantu z predchádzajúcej CPE), pričom Ag^+ ióny zostali vo vodnej fáze a prítomné AuNP boli opäť zachytené v micelárnej fáze. Supernatant bol odstránený a tenzidom obohatená fáza s AuNP bola podrobená kvantifikácii. Pri použití tohto postupu neboli pozorované interferencie ani v prípade koncentrácie AgNP o tri rády vyššej v porovnaní s koncentráciou AuNP.

Modelové roztoky obsahujúce ekvimolárne pomery nanočastíc AuNP/ AgNP , AuNP/ PdNP a AuNP/ AgNP / PdNP boli pripravené za účelom sledovania vplyvu AgNP a PdNP na selektívnu separáciu AuNP s využitím RP-C18 kolóny, s následnou extrakciou AuNP do 1-DDT v chloroforme²⁸. Priemerné dosiahnuté výťažnosti boli pri všetkých modelových roztokoch na úrovni $> 92 \%$.

4.4. Selektívna separácia nanočastíc zlata v prítomnosti rozpustenej organickej hmoty

Interakcia AuNP s rozpustenou organickou hmotou (dissolved organic matter, DOM) môže viesť k ich stabilizácii²⁷, čo sa javí ako nežiadúci efekt pri vypracovávaní extrakčných postupov určených na separáciu AuNP z vodných vzoriek. Koncentrácie DOM sa pohybujú rádo vo v jednotkách mg l^{-1} v prírodných vodách a v desiatkach mg l^{-1} v odpadových vodách³⁹. V publikovaných prácach bola prítomnosť rozpustenej organickej hmoty v modelových roztokoch simulovaná prídavkami komerčne dostupných humínových kyselín (HA). Koncentrácie HA v modelových roztokoch sa často pohybovali na úrovni 10 mg l^{-1} (cit.^{30,31,34,41}) s poznámkou, že uvedená koncentrácia značne prekračuje bežné koncentrácie DOM v prírodných vodách. Pri extrakčných výťažkoch $> 85 \%$ autori konštatovali, že prítomnosť DOM neovplyvňuje selektívnu separáciu AuNP. V niektorých publikovaných prácach boli vyvedené rovnaké závery pri testovaní ešte vyšších koncentrácií HA, napr. 25 mg l^{-1} (cit.³⁹) alebo 30 mg l^{-1} (cit.^{21,40}).

Prítomnosť HA negatívne ovplyvňovala veľkosť extrakčných výťažkov v SPE postupe zahŕňajúcom použitie reverzno-fázovej náplne obsahujúcej C18 (cit.²⁸). Pri modelových roztokoch s koncentraciami HA do 16 mg l^{-1} boli znížené extrakčné výťažnosti pozorované už pri najnižších testovaných koncentráciách, pravdepodobne z dôvodu nežiadúcej stabilizácie AuNP prítomnými HA,

čo skomplikovalo ich zachytenie na SPE náplni. K nárastu výťažnosti následne prispela úprava modelových roztokov prídavkom H_2O_2 . V takto upravených roztokoch boli kvantitatívne extrakčné výťažnosti dosahované iba do koncentrácie HA $3,4 \text{ mg l}^{-1}$, ďalšie zvyšovanie koncentrácie HA až na úroveň 16 mg l^{-1} viedlo k značnému poklesu extrakčných výťažností aj napriek úprave modelových roztokov.

Pri použití iónovo-výmenného sorbentu Amberlite IRN-78 bolo možné vypracovať spoľahlivý extrakčný postup pre AuNP iba v tom prípade, ak sa koncentrácie HA pohybovali do 2 mg l^{-1} (cit.²⁹).

4.5. Tolerančné limity pre vybrané potenciálne rušivé zložky prítomné vo vodách

Dostupná literatúra nie vždy uvádza tolerančné limity pre potenciálne interferenty, ktoré sa môžu nachádzať v analyzovaných prírodných vodách. Záver, že doprevádzajúce zložky analyzovanej matrice nepredstavujú problém, bol častokrát vyvodený na základe vyhodnotenia experimentov, počas ktorých bola analyzovaná vzorka obohatená presne známou koncentráciou AuNP. Ak boli dosiahnuté extrakčné výťažnosti z takto obohatenej vzorky vyhodnotené ako kvantitatívne, postačovalo to ako dôkaz o prítomnosti neinterferujúcich doprevádzajúcich zložiek.

Tabuľka I poukazuje na niekoľko prác, v ktorých boli študované modelové roztoky obsahujúce samostatne niektoré z anorganických kationov alebo aniónov. Sú tu uvedené koncentrácie potenciálnych interferentov, ktoré nijako neovplyvnili extrakčné výťažnosti AuNP v publikovaných extrakčných postupoch.

Z tab. I je zrejmé, že interferenčné štúdie zamerané na anorganické ióny (konkrétne K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , NO_3^- , SO_4^{2-} a Cl^-) uvádzajú tolerančné limity rádovo v tisíckach mg l^{-1} (cit.^{21,34,40}). Tolerančné limity pre niektoré ďalšie potenciálne interferenty sú nasledovné: do 1 mg l^{-1} pre Fe^{3+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} a Pb^{2+} (cit.²¹); do 25 mg l^{-1} pre Zn^{2+} , Fe^{3+} ,

Cu^{2+} , Ni^{2+} a Al^{3+} (cit.³¹); a do 10 mg l^{-1} pre anorganické anióny ako sú PO_4^{3-} a F^- (cit.³¹).

Na záver tejto časti možno poznamenať, že koncentrácie sledovaných potenciálnych interferentov boli oveľa vyššie než koncentrácie AuNP použité v modelových roztokoch.

5. Zhrnutie

V publikovaných prácach opisujúcich extrakčné postupy na separáciu AuNP z reálnych vodných vzoriek boli na stabilizáciu AuNP použité rôzne stabilizačné činidlá. Rozhodujúcu úlohu pre vypracovanie efektívneho separačného postupu zohrával typ funkčných skupín zvoleného stabilizačného činidla, ale aj veľkosť molekúl použitého činidla. Optimalizácia všetkých dôležitých experimentálnych parametrov spolu so snahou podporiť pozitívne interakcie medzi AuNP a použitou extrakčnou fázou častokrát priniesla očakávané výsledky v podobe vysokých extrakčných výťažností ($> 85\%$).

Hoci testované AuNP mali rôznu veľkosť, extrakčné výťažnosti boli pre všetky posudzované veľkosti častíc častokrát porovnateľné. Ako príklad uvádzame štyri skupiny AuNP s veľkosťou 10 nm, 20 nm, 40 nm a 80 nm aplikované v rámci SPE postupu a extrahované s výťažkom nad 88 % pri všetkých testovaných veľkostiach²⁸. Podobný výťažok ($> 89\%$) bol získaný pre nanočastice s rozmermi 14–140 nm použitými v MSPE postupe²¹. Extrakčné výťažnosti v priemere okolo 80 % dosiahli El-Hadri a Hackley²⁷ po aplikovaní CPE postupu pre veľkosti častíc 10–60 nm. O niečo nižšie výťažnosti ($> 75\%$) pre častice o veľkosti 2–80 nm získali s využitím CPE postupu Hartmann a Schuster, pri 150 nm AuNP extrakčná výťažnosť klesla zhruba na 50 % (cit.⁴¹). Rovnaká odozva meraného signálu po separácii bez ohľadu na veľkosť častíc (15–40 nm) bola zistená po aplikovaní iSAME postupu³¹. Pri testovaní troch rôznych veľkostných skupín

Tabuľka I

Koncentrácie doprevádzajúcich zložiek, ktorých prítomnosť neovplyvnila extrakčné výťažnosti AuNP vo vypracovaných extrakčných postupoch

Extrakcia ^a	Detekcia ^b	Tolerančné limity pre potenciálne interferenty [mg l^{-1}]								Lit.
		K^+	Na^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	NO_3^-	SO_4^{2-}	Cl^-	HA ^c	
IL- μ LLE	UV-Vis	5000	5000	1000	1000	8000	500	3000	30	40
iSAME	ETAAS	---	---	150	150	---	10	10	10	31
CME	ICP-MS	1,6	11	95	38	---	71,5	25	10	30
MSPE	ICP-MS	5000	10000	2000	2000	8000	1000	15000	30	21
MSPE	ETAAS	---	---	2000	2000	2000	2000	2000	10	34

^a IL- μ LLE: kvapalinová mikroextrakcia s využitím iónovej kvapaliny; iSAME: *in-situ* mikroextrakcia suspendovaných agregátov; CME: kapilárna mikroextrakcia; MSPE: magnetická extrakcia tuhou fázou; ^b UV-Vis: spektrofotometria v ultrafialovej a viditeľnej oblasti; ETAAS: elektrotermická atómová absorpčná spektrometria; ICP-MS: hmotnostná spektrometria s indukčne viazanou plazmou; ^c HA: humínová kyselina

nanočastic, a to 17–21 nm, 47–64 nm a 80–108 nm bola nameraná intenzita signálu identická (koncentrácia Au meraná priamo v modelových roztokoch bez prekoncepcie metódou ETV-ICP-MS), ale intenzita signálu pre roztoky po SA-DLLME extrakcii bola mierne znížená pre najväčšie z testovaných nanočastic⁴⁰. Zatiaľ čo sorpciu AuNP na metyl-akrylamidový polymér pre veľkostné frakcie 3 nm, 17 nm a 40 nm bolo možné označiť ako kvantitatívnu (92–95 %), množstvo nanočastic získaných po elúcii zo sorbentu bolo rôzne: 96 % pre 3 nm častice, 89 % pre 17 nm častice a iba 58 % pre 40 nm (cit.³⁰).

Ďalšou dôležitou súčasťou uverejnených prác boli interferenčné štúdie zamerané na selektívnu separáciu AuNP s využitím vypracovaných extrakčných postupov. Skúmal sa najmä vplyv rôznych anorganických iónov (katiónov aj aniónov) bežne sa nachádzajúcich vo vodách, vplyv prítomných iónových foriem zlata, vplyv nanočastic iných kovov a vplyv rozpustenej organickej hmoty. Praktickým výstupom interferenčných štúdií bolo stanovenie tolerančných limitov pre niektoré katióny a anióny bežne prítomné v prírodných vodách^{21,31,34,40}. Dôkladná optimalizácia všetkých krokov v navrhovaných extrakčných postupoch viedla k selektívnej separácii AuNP aj v prítomnosti ich doprevádzajúcich iónových špecií^{21,28,30,38,40–42}.

Selektívna separácia AuNP z modelových roztokov bola častokrát možná aj napriek nadbytku nanočastic iných kovov, napr. TiO₂NP (cit.⁴¹) alebo AgNP (cit.⁴⁰). V niektorých prípadoch napomohla k selektívnej kvantifikácii AuNP práve použitá detekčná metóda, napríklad v situáciách, keď boli spolu s AuNP extrahované aj nanočastice iného kovu (AgNP) (cit.²⁵). Modifikácia modelových roztokov 10 mmol l⁻¹ roztokom H₂O₂ po spoločnej extrakcii AgNP a AuNP bola tiež možnou alternatívou vhodnou na dosiahnutie selektívnej kvantifikácie AuNP z modelových roztokov obsahujúcich zmes už spomenutých nanočastic⁴².

Vplyv rozpustenej organickej hmoty na AuNP simulovaný prídavkami HA často v značne zvýšených koncentráciách sa ukázal ako zanedbateľný vo väčšine publikovaných prác^{21,30,31,34,39–41}.

6. Záver

Zaradenie vyššie uvedených extrakčných techník medzi postupy na separáciu AuNP zo skutočných environmentálnych vzoriek je v súčasnosti skôr ojedinelé. Tu sa vynára otázka, či možno prezentované postupy považovať za dostatočne robustné, čo by v prípade kladnej odpovede samozrejme mohlo viesť k rozšíreniu ich používania na rôzne typy (nielen vodných) matric; alebo majú vypracované extrakčné postupy iba obmedzené použitie na niektoré menej komplikované typy vodných matric, akými sú pitné, jazerné a riečne vody. Ak aj platí druhá spomenutá úvaha, je tu veľký predpoklad, že v relatívne čistých vodách budú koncentrácie AuNP aj v budúcnosti stále veľmi nízke a ich odhadované environmentálne riziko tak zatiaľ nehrozí. Informácie o predpokladaných zvýšených kon-

centráciách AuNP v odpadových vodách by každopádne mohli byť zaujímavým údajom. Spôľahlivá kvantifikácia ultrastopových analytov je však vo vzorkách, ktoré mnohokrát predstavujú zmes širokospektrálnych rôznorodých zložiek (organických, anorganických, nízkomolekulových, vysokomolekulových) prítomných na rôznych koncentračných úrovniach, značne problematická, ak nie priam nemožná. Analytická výzva spoľahlivo kvantifikovať AuNP v odpadových vodách pomocou separácie prostredníctvom extrakčných techník je z tohto dôvodu stále vysoko aktuálna.

Výsledky prác spomenutých v tomto prehľade jednoznačne poukazujú na to, že vypracovanie spoľahlivého extrakčného postupu na selektívnu separáciu ultrastopových AuNP čo i len z prírodných vôd nie je jednoduchou a ani rýchlou záležitosťou. Vďaka dôkladnej optimalizácii experimentálnych parametrov, správne pochopeným separačným mechanizmom a podporením pozitívnych interakcií medzi AuNP a extrakčnou fázou pri analýze prírodných vôd (pitných, riečnych, jazerných, minerálnych, morských) obohatených o rôzne koncentrácie AuNP (sledované väčšinou na troch koncentračných úrovniach) boli nakoniec dosiahnuté kvantitatívne extrakčné výťažnosti.

Práca vznikla v rámci riešenia projektu, ktorý je finančne podporovaný grantom Vedeckej grantovej agentúry Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu SR a Slovenskej akadémie vied VEGA 1/0135/22.

LITERATÚRA

- Opršal J., Knotek P., Pouzar M., Palarčík J., Novotný L.: Chem. Listy 107, 386 (2013).
- Řezníčková A., Novotná Z., Kolská Z., Ulbrich P., Švorčík V.: Chem. Listy 108, 865 (2014).
- Šimšíková M., Antalík M.: Chem. Listy 108, 673 (2014).
- Cyrusová T., Podlipná R., Vaněk T.: Chem. Listy 109, 276 (2015).
- Kučírková L., Královec K., Havelek R., Brůčková L., Sedlák M.: Chem. Listy 109, 693 (2015).
- Hrivnáková V., Fargašová A.: Chem. Listy 110, 440 (2016).
- Pádrová K., Bajarová K., Čejková A.: Chem. Listy 110, 48 (2016).
- Šebesta M., Kolenčík M., Matuš P., Kořenková L.: Chem. Listy 111, 322 (2017).
- Hagarová I.: Chem. Listy 112, 79 (2018).
- Šebesta M., Matuš P.: Chem. Listy 112, 583 (2018).
- Reveno D., Loula M., Mestek O., Koplík R.: Chem. Listy 113, 478 (2019).
- Michailidu J., Miškovská A.: Chem. Listy 114, 823 (2020).
- Siegel J., Staszek M., Kaimlová M., Švorčík V.: Chem. Listy 114, 41 (2020).
- Čiháková P., Zuzáková J., Ambrožová J. R.: Chem. Listy 115, 588 (2021).
- Hagarová I.: Chem. Listy 115, 38 (2021).

16. Lacmanová V., Švorčík V., Kvítek O., Řezníčková A.: *Chem. Listy* 115, 151 (2021).
17. Miškovská A., Čejková A.: *Chem. Listy* 115, 422 (2021).
18. Balážová L., Čižmárová A., Baláž M., Daneu N., Salayová A., Bedlovičová Z., Tkáčiková L.: *Chem. Listy* 116, 135 (2022).
19. Čiháková P., Zuzáková J., Ambrožová J. R.: *Chem. Listy* 116, 119 (2022).
20. Horváthová H., Dercová K., Tlčíková M., Hurbanová M.: *Chem. Listy* 116, 405 (2022).
21. Su S. W., Chen B. B., He M., Xiao Z. W., Hu B.: *J. Anal. At. Spectrom.* 29, 444 (2014).
22. Patil T., Gambhir R., Vibhute A., Tiwari A. P.: *J. Cluster Sci.* 2022, <https://doi.org/10.1007/s10876-022-02287-6>, staženo 6. 1. 2023.
23. Chegél V., Rachkov O., Lopatynskiy A., Ishihara S., Yanchuk I., Nemoto Y., Hill J. P., Ariga K.: *J. Phys. Chem. C* 116, 2683 (2012).
24. Pamies R., Cifre J. G. H., Espín V. F., Collado-González M., Baños F. G. D., de la Torre J. G.: *J. Nanopart. Res.* 16, 2376 (2014).
25. Jesús Dueñas-Mas M., Laura Soriano M., Ruiz-Palmero C., Valcárcel M.: *Microchem. J.* 138, 379 (2018).
26. López-Lorente A. I., Simonet B. M., Valcárcel M.: *Analyst* 137, 3528 (2012).
27. El Hadri H., Hackley V. A.: *Environ. Sci.: Nano* 4, 105 (2017).
28. Li L. X. Y., Leopold K.: *Anal. Chem.* 84, 4340 (2012).
29. Li L. X. Y., Leopold K., Schuster M.: *Chem. Commun.* 48, 9165 (2012).
30. Zhang L., Chen B. B., He M., Liu X. L., Hu B.: *Anal. Chem.* 87, 1789 (2015).
31. Choleva T. G., Kappi F. A., Tsogas G. Z., Vlessidis A. G., Giokas D. L.: *Talanta* 151, 91 (2016).
32. Thompson D. W., Collins I. R.: *J. Colloid Interface Sci.* 152, 197 (1992).
33. Vidojkovic S. M., Rakin M. P.: *Adv. Colloid Interface Sci.* 245, 108 (2017).
34. García-Figueroa A., Pena-Pereira F., Lavilla I., Bendicho C.: *Talanta* 193, 176 (2019).
35. Hotze E. M., Phenrat T., Lowry G. V.: *J. Environ. Qual.* 39, 1909 (2010).
36. Zikmund M., Hrnčiarová K.: *Chem. Listy* 91, 169 (1997).
37. Jakubíková B., Kovanda F.: *Chem. Listy* 104, 906 (2010).
38. Choleva T. G., Giokas D. L.: *Anal. Methods* 12, 368 (2020).
39. Bahadir Z., Torrent L., Hidalgo M., Margui E.: *Spectrochim. Acta, Part B* 149, 22 (2018).
40. Liu Y., He M., Chen B. B., Hu B.: *Spectrochim. Acta, Part B* 122, 94 (2016).
41. Hartmann G., Schuster M.: *Anal. Chim. Acta* 761, 27 (2013).
42. Mandyla S. P., Tsogas G. Z., Vlessidis A. G., Giokas D. L.: *J. Hazard. Mater.* 323, 67 (2017).
43. Tsogas G. Z., Giokas D. L., Vlessidis A. G.: *Anal. Chem.* 86, 3484 (2014).

I. Hagarová and L. Nemček (*Institute of Laboratory Research on Geomaterials, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava, Slovakia*): **A Further Insight into Extraction Procedures Suitable for Separation of Gold Nanoparticles from Environmental Waters**

Gold nanoparticles (AuNP) are being utilized in an ever-expanding number of applications ranging from scientific research to industrial processes. Increasing nanoparticle emissions in the environment have become of public and academic concern. Since the effects of AuNP on human health are not fully understood, the accumulation of reliable and detailed data is critical for the assessment of their potential risk of harm to humanity. Even their concentrations in natural and engineered water systems do not belong to commonly published data. To obtain such information, the environmental chemists use various sophisticated analytical methods that are often very expensive. Therefore, this paper aims to challenge the analytical potential and advantages of cheaper and equally reliable alternatives that couple the well-established extraction procedures with common spectrometric methods to quantify the ultratrace concentrations of AuNP in complex aqueous matrices. Both types of extraction procedures, solvent extractions as well as sorbent extractions, are discussed in the text. A detailed inspection of different types of interactions that are responsible for the ability to selectively separate AuNP from mixtures containing various ionic species, gold ions, other metallic nanoparticles, and dissolved organic matter can be found in this overview. The examples of the tolerance limits reported for several coexisting components of interest are also given. Practical applications of the extraction procedures, summarized in this article, were demonstrated in analysis of actual environmental matrices, such as tap, river, lake, brook, mineral, and sea waters.

Keywords: extraction procedures, gold nanoparticles, ionic gold species, separation mechanisms, potential interferences, dissolved organic matter, environmental waters

Acknowledgements

The work was supported by the Scientific Grant Agency of the Ministry of Education, Science, Research and Sport of the Slovak Republic and the Slovak Academy of Sciences under the contract VEGA 1/0135/22.

JASMONÁTY, ICH BIOSYNTÉZA, METABOLIZMUS A SIGNÁLNA DRÁHA V RASTLINNÝCH ORGANIZMOCH

MICHAELA MERGOVÁ^a, ANDREA BALAŽOVÁ^b, MAREK OBLOŽINSKÝ^b, IVANA HOLKOVÁ^b, PAVEL MUČAJI^a a SILVIA BITTNER FIALOVÁ^a

^a Katedra farmakognózie a botaniky, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava,

^b Katedra bunkovej a molekulárnej biológie liečiv, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského, Kalinčiakova 8, 832 32 Bratislava, Slovensko

mergoval@uniba.sk, balazova@fpharm.uniba.sk, oblozinsky@fpharm.uniba.sk, holkova@fpharm.uniba.sk, silvia.bittner.fialova@uniba.sk, mucaji@fpharm.uniba.sk,

Došlo 30.9.22, prijaté 21.10.22.

Jasmonáty, deriváty kyseliny jasmónovej, sú od lipidov odvodené oxylipíny s cyklopentanónovým skeletom vznikajúce lipoxygenázami sprostredkovanou dioxygenáciou. Biosyntéza kyseliny jasmónovej je katalyzovaná skupinou rôznych enzýmov, od lipoxygenázy, allénoxidsyntázy, allénoxidcyklázy a OPDA reduktázy po enzýmy troch kôl β -oxidácie. Z výslednej kyseliny jasmónovej vzniká niekoľko metabolitov, jasmonátov, z nich niektoré vykazujú aktivitu na jasmonátovom receptore, čím spúšťajú jasmonátovú signálnu dráhu. Produkty génovej expresie vychádzajúce z tejto signálnej dráhy sú významné v procesoch rastu, vývoja, rozmnožovania, starnutia rastlín, aj v obrane a adaptácii na rozličné nepriaznivé environmentálne podmienky.

Kľúčové slová: kyselina jasmónová, jasmonáty, jasmonátová signálna dráha

Obsah

1. Úvod
2. Charakteristika jasmonátov
3. Biosyntéza jasmonátov
4. Metabolické cesty kyseliny jasmónovej
5. Signálna dráha jasmonátov
6. Význam jasmonátovej signálnej dráhy pri vývoji a obrane rastlín
7. Záver

1. Úvod

Jasmonáty – deriváty kyseliny jasmónovej, sú po chemickej stránke cyklopentanóny vznikajúce z nenasýtených alifatických kyselín, čím sa radia medzi rozsiahlu skupinu oxylipínov. Termín oxylipíny označuje rozmanitú skupinu molekúl obohatených o kyslík, ktoré v rastlinách vznikajú z rôznych nenasýtených mastných kyselín procesom chemickej autooxidácie, no častejšie za enzymovej katalýzy aspoň jednej mono- alebo dioxygenázy. V živočíšnej ríši sú k rastlinným oxylipínom prirovnávané podobným mechanizmom vznikajúce eikozanoidy, kde hlavným lipidovým prekursorom je kyselina arachidónová, s mnohými dôležitými fyziologickými funkciami (najmä pro- a protizápalová aktivita)¹. Rastliny, na rozdiel od živočíchov, nie sú schopné reagovať zmenou vlastnej polohy na meniace sa podmienky prostredia, preto si vyvinuli sieť náhradných mechanizmov s množstvom signál-

ných molekúl, ktoré spoločne komplexne reagujú na zmeny a zvyšujú tak prispôsobivosť a šancu rastlín na prežitie. Takýmito signálnymi molekulami sú práve jasmonáty zúčastňujúce sa rozoznávania a modulácie adekvátnych reakcií na stresové faktory vo vnútornom aj vonkajšom prostredí. Jasmonáty, ubikvitárne vo vyšších rastlinách, patria medzi najviac analyzovaných a skúmaných skupinu rastlinných oxylipínov. Fungujú aj ako fytohormóny, teda regulujú a zasahujú do procesov rastu, vývoja, rozmnožovania, ale aj smrti rastlín².

2. Charakteristika jasmonátov

Prvým izolovaným jasmonátom, ktorý spustil kaskádu ďalšieho výskumu, bol jasmón zo silice rastliny *Jasminum grandiflorum* L. (jazmín veľkokvetý) z čeľade Oleaceae. Neskôr bol z tejto silice izolovaný, za vôňu zodpovedný, metyljasmonát, jeden z doteraz najviac preskúmaných derivátov kyseliny jasmónovej (JK). Tá bola vo svojej čistej forme prvýkrát izolovaná oveľa neskôr z huby *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. (rastlinný patogén). Až následne došlo k objasneniu jej chemickej štruktúry a mechanizmu biosyntézy, na základe ktorých sa zaradili jasmonáty k oxylipínom, teda kyslíkovým derivátom nenasýtených mastných kyselín³. Charakteristickým špecifikom v chemickej štruktúre JK je cyklopentanónový skelet (s oxo-skupinou v polohe 3). Cyklický skelet obsahuje aj pentenylový reťazec, pričom pre vznik mnohých derivátov je dôležitá najmä karboxylová skupina

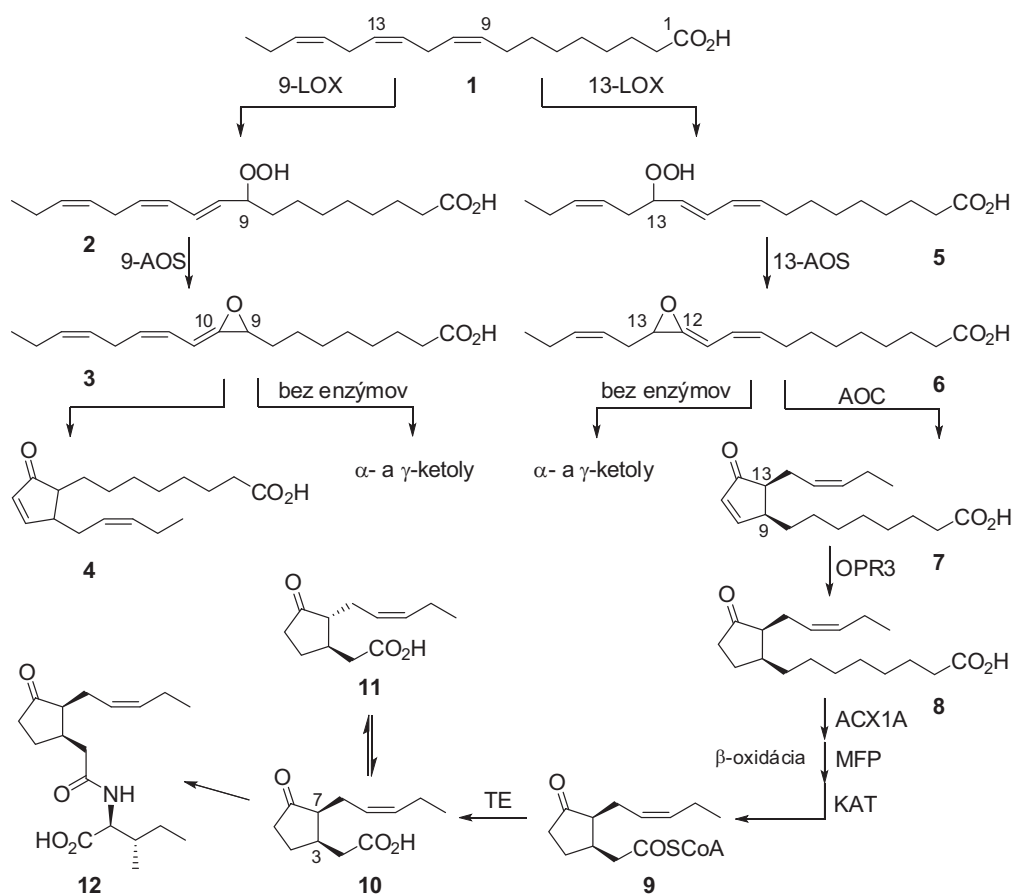
JK. Reakciami práve s karboxylovou skupinou vznikajú deriváty ako metyljasmonát či izoleucín-jasmonát⁴.

3. Biosyntéza jasmonátov

Jasmonáty sa v rastlinách tvoria za fyziologických podmienok, no najmä ako reakcia na rôzne druhy biotického a abiotického stresu. Proces biosyntézy prebieha pri oboch typoch stresu rovnako. Biosyntéza začína v chloroplastoch nevyhnutným uvoľnením nenasýtených mastných kyselín z fosfolipidov membrán. Východiskovou je kyselina α -linolénová s tromi dvojitými väzbami, no v malej miere sú niektoré prekursor jasmonátov tvorené aj z kyseliny linolovej s dvoma dvojitými väzbami a kyseliny hexadekatriénovej^{5,6}. Hydrolyzou dvomi špeciickými lipidovými hydrolázami, fosfolipázou A_1 (hydrolyza v pozícii *sn1*) a A_2 (hydrolyza v pozícii *sn2*), sa

tieto kyseliny uvoľnia a podliehajú enzýmovej oxidácii lipoxygenázami a ďalšími vetvami lipoxygenázovej, resp. oktadekánovej cesty^{7,8}. Práve jasmonáty sú produktom jednej zo siedmich vetiev tejto biosyntetickej cesty⁹. Obrázok 1 zobrazuje vznik kyseliny jasmónovej zo substrátu kyseliny α -linolénovej.

Spoločným menovateľom lipoxygenázovej biosyntetickej cesty sú rastlinné lipoxygenázy (LOX, linoleát: O_2 oxidoreduktázy, EC 1.13.11.12), ktorými začína proces oxidácie mastných kyselín. Vo svojej štruktúre obsahujú pre katalytickú aktivitu nevyhnutné nehémové železo. Vo všeobecnosti katalyzujú polohovo a priestorovo špecifickú dioxygenáciu, teda adíciu molekuly kyslíka na nenasýtené mastné kyseliny. Podmienkou pre dioxygenáciu je prítomnosť *cis,cis*-1,4-pentadiénovej štruktúry nenasýtenej mastnej kyseliny, z ktorej vzniknú príslušne hydroperoxydy¹⁰. Po vstupe kyseliny α -linolénovej do aktívneho miesta lipoxygenázy dochádza k selektívnemu odštiepeniu



Obr. 1. Biosyntéza kyseliny jasmónovej (spracované podľa⁸). Dioxygenácia kyseliny α -linolénovej enzýmami 9-lipoxygenáza (9-LOX) a 13-lipoxygenáza (13-LOX). 9-AOS – 9-allénoxidsyntáza, 13-AOS – 13-allénoxidsyntáza, AOC – allénoxidcykláza, OPR3 – OPDA reduktáza 3, ACX1A – acyl-CoA oxidáza, MFP – multifunkčný proteín, KAT – ketoacyl-CoA tioláza, TE – thioesteráza, 1 – kyselina α -linolénová, 2 – 9-hydroperoxyoktadekatriénová kyselina, 3 – 9, 10-epoxyoktadekatriénová kyselina, 4 – 10-oxofytodiénová kyselina, 5 – 13-hydroperoxyoktadekatriénová kyselina, 6 – 12,13-epoxyoktadekatriénová kyselina, 7 – *cis*-(+)-OPDA – *cis*-(+)-oxofytodiénová kyselina, 8 – 3-oxo-2(2[Z]-pentylyl)-cyclopentán-1-oktánová kyselina, 9 – jasmonoyl-koenzým A, 10 – kyselina (+)-7-*izo*-jasmónová, 11 – kyselina (-)-jasmónová, 12 – (+)-7-*izo*-jasmonoyl-izoleucín

vodíka z atómu uhlíka v polohe C11, na základe vytvoreného radikálu mastnej kyseliny dochádza k inzercii molekule kyslíka do polôh (+2) alebo (–2), čím vznikne buď kyselina 13-hydroperoxyoktadekatriénová alebo kyselina 9-hydroperoxyoktadekatriénová. Rovnakej reakcii môže podliehať aj kyselina linolová za vzniku kyseliny 13-hydroperoxyoktadekadiénovej a 9-hydroperoxyoktadekadiénovej. Na základe polohy inzercie kyslíka sú rastlinné lipoxygenázy delené na 9-LOX a 13-LOX (cit.^{11,12}). Do biosyntézy jasmonátov sa zapája práve 13-LOX a z nej vznikajúca 13-hydroperoxyoktadekatriénová, prípadne 13-hydroperoxyoktadekadiénová kyselina¹³.

Biosyntéza pokračuje dehydratáciou 13-hydroperoxyoktadekatriénovej kyseliny pomocou atypického enzýmu cytochrómu P450 zo skupiny CYP74A, allénoxidsyntázy (AOS, EC 4.2.1.92), ktorý pre svoju aktivitu nepotrebuje molekulárny kyslík či NADPH-závislú cytochróm P450 reduktázu ako kofaktor, ale ako zdroj kyslíka používa priamo hydroperoxid¹⁴. V rode *Arabidopsis* (L.) Heynh., teda arábkovka, z čeľade Brassicaceae, ktorý je modelovým druhom pre skúmanie tvorby jasmonátov, je enzým AOS kódovaný len jediným génom, zatiaľ čo v iných vyšších rastlinách aj prokaryotoch ho kóduje viacero génov. Táto skutočnosť môže naznačovať, že AOS je regulačným enzýmom tvorby jasmonátov¹⁵. AOS sa vyznačuje substrátovou špecifitou, katalyzuje dehydratáciu, buď produktu vznikajúceho pomocou 9-LOX, alebo produktu vznikajúceho 13-LOX. Imunofluorescenciou však bola dokázaná väzba AOS a 13-LOX na membránu chloroplastov, pričom 9-LOX je špecifická pre cytozol, s vysokou pravdepodobnosťou preto AOS v chloroplastoch katalyzuje premenu len 13-HPOT (cit.¹⁶).

Vzniknutý vysoko nestabilný produkt 12,13(*S*)-epoxy-[9(*Z*),11(*E*),15(*Z*)]-oktadekatriénová kyselina sa vo vodnom prostredí prirodzene a jednoducho hydrolyzuje na α -ketoly a γ -ketoly, prípadne neenzýmová premena vedie k racemickej zmesi dvoch enantiomérov 12-oxofytodiénovej kyseliny¹⁷. Avšak pre biosyntézu jasmonátov je nevyhnutný opticky čistý produkt, kyselina 12-oxo-10,15(*Z*)-fytodiénová, skrátene *cis*-(+)-OPDA, ktorá vzniká výlučne pôsobením enzýmu allénoxidcykláza (AOC)⁴. AOC býva kódovaná viacerými génmi, napr. v druhu *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (arábkovka Thalova) sú to konkrétne štyri gény¹⁸. To, že sú medzi produkty vznikajúce aktivitou AOS nestabilné, spolu s vysokou optickou čistotou *cis*-(+)-OPDA nevyhnutnej pre správnu konfiguráciu cyklopentanónového skeletu jasmonátov, naznačuje silnú väzbu medzi reakciami katalyzovanými týmito dvoma enzýmami¹⁹.

Paralelnou biosyntetickou cestou, kedy je substrátom kyselina hexadekatriénová s nižším počtom uhlíkov (pri nedostatku kyseliny α -linolénovej), vzniká účinkom 13-LOX, 13-AOS a 13-AOC tzv. dinor-12-oxofytodiénová kyselina⁶. Zaujímavosťou je zakomponovanie kyseliny 12-oxofytodiénovej a dinor-12-oxofytodiénovej do galaktolipidov membrán chloroplastov v niektorých druhoch čeľade Brassicaceae, napr. aj v *A. thaliana* (arábkovka). Tento špecifický druh lipidov, arabidopsidy, slúži pravdepodobne ako rezervoár kyseliny 12-oxofytodiénovej pre syntézu

jasmonátov v čase ich zvýšenej potreby (napr. pri poranení rastlinných pletív)⁷.

Všetky predchádzajúce kroky sa odohrávajú v membráne chloroplastu, avšak nasledujúce reakcie prebiehajú v peroxizóme endoplazmatického retikula, čo si vyžaduje transport substrátu *cis*-(+)-OPDA minimálne cez dve membrány. Transportný mechanizmus nie je úplne objasnený, predpokladá sa, že na základe hydrofóbného charakteru molekúl *cis*-(+)-OPDA tieto prechádzajú membránou chloroplastu v podobe príslušných esterov koenzýmu A (CoA) vznikajúcich činnosťou acyl-CoA syntetázy. Za ich prestup do peroxizómu endoplazmatického retikula je zodpovedný ATP-závislý proteínový transportér²⁰. V peroxizóme prebieha redukcia cyklopentanónového skeletu *cis*-(+)-OPDA na cyklopentanónový kruh, z *cis*-(+)-OPDA vzniká 3-oxo-2(2'[Z]-pentenyl)-cyklopentán-1-octánová kyselina redukciou dvojitej väzby medzi 10. a 11. uhlíkom. Reakcia je katalyzovaná enzýmom OPDA reduktáza (OPR, EC.1.3.1.4.) zo skupiny flavín-závislých oxidoreduktáz^{1,6}. V rôznych rastlinných druhoch bol doteraz identifikovaný rôzny počet jej izoenzýmov, v modelovej *A. thaliana* (arábkovka) šesť, osem v *Zea mays* L. (kukurica siata) z čeľade Poaceae, či minimálne tri v *Solanum tuberosum* L. (ľuľok zemiakový) z čeľade Solanaceae. Vykonaním viacerých experimentov s blokováním génov kódujúcich izoenzýmy sa zistilo, že na redukcii *cis*-(+)-OPDA sa v *A. thaliana* (arábkovka) podieľa práve izoenzým OPDA reduktáza 3, prípadne jeho analógy v ostatných druhoch^{21,22}. Finálnymi krokmi biosyntézy JK je skrátenie reťazca karboxylovej kyseliny tromi kolami β -oxidácie. Nevyhnutnou pre vstup do β -oxidácie je aktivácia karboxylovej kyseliny na prislúchajúci ester koenzýmu A, ktorá je katalyzovaná enzýmom OPC:CoA ligáza 1 patriacim do širšej skupiny acyl-CoA syntetáz závislých od ATP (cit.⁷).

Každé z troch kôl β -oxidácie prebieha za vzájomnej spolupráce troch enzýmov: acyl-CoA oxidázy, tzv. multifunkčného proteínu a ketoacyl-CoA tiolázy. Acyl-CoA oxidáza katalyzuje konverziu acyl-CoA na *trans*-2-enoyl CoA, vedľajším produktom je peroxid vodíka premieňaný antioxidantnou katalázou na vodu. Multifunkčný proteín sprostredkuje viaceré reakcie, a to hydratáciu, dehydrogenáciu, epimerizáciu a izomerizáciu. Katalýzou ketoacyl-CoA tiolázy sa na konci uvoľňuje acetyl-CoA, finálnym produktom je jasmonoyl-CoA, ktorý vo forme koenzýmu neprechádza membránou peroxizómu. Tu sa zapája doteraz neznáma tioesteráza uvoľňujúca kyselinu (+)-7-izojasmónovú, ktorá sa v rovnakom pomere mení na stabilnejšiu kyselinu (–)-jasmónovú schopnú prechodu do cytozolu, kde prebieha jej metabolická premena na ďalšie deriváty, jasmonáty^{18,20}.

Celý proces tvorby JK a jej derivátov podlieha niekoľkým regulačným mechanizmom. V prvom rade je to dostatok substrátu, teda nenasýtených mastných kyselín uvoľnených z membrán na základe externých stimulov (napr. poranenia, napadnutia hmyzom), najmä α -linolénovej kyseliny, a jej vyššie spomenutých náhrad. Dôležitou je aj regulácia pozitívnu spätnou väzbou, kde JK

a medzi produkty biosyntézy spúšťajú kaskádu zvýšenej expície génov kódujúcich enzýmy biosyntézy. Tvorba JK je tiež podmienená pletivovou špecifitou, rôzne pletivá obsahujú rozličnú sadu izoenzymov biosyntézy JK, z ktorých sa mnohé na jej tvorbe nezúčastňujú¹³.

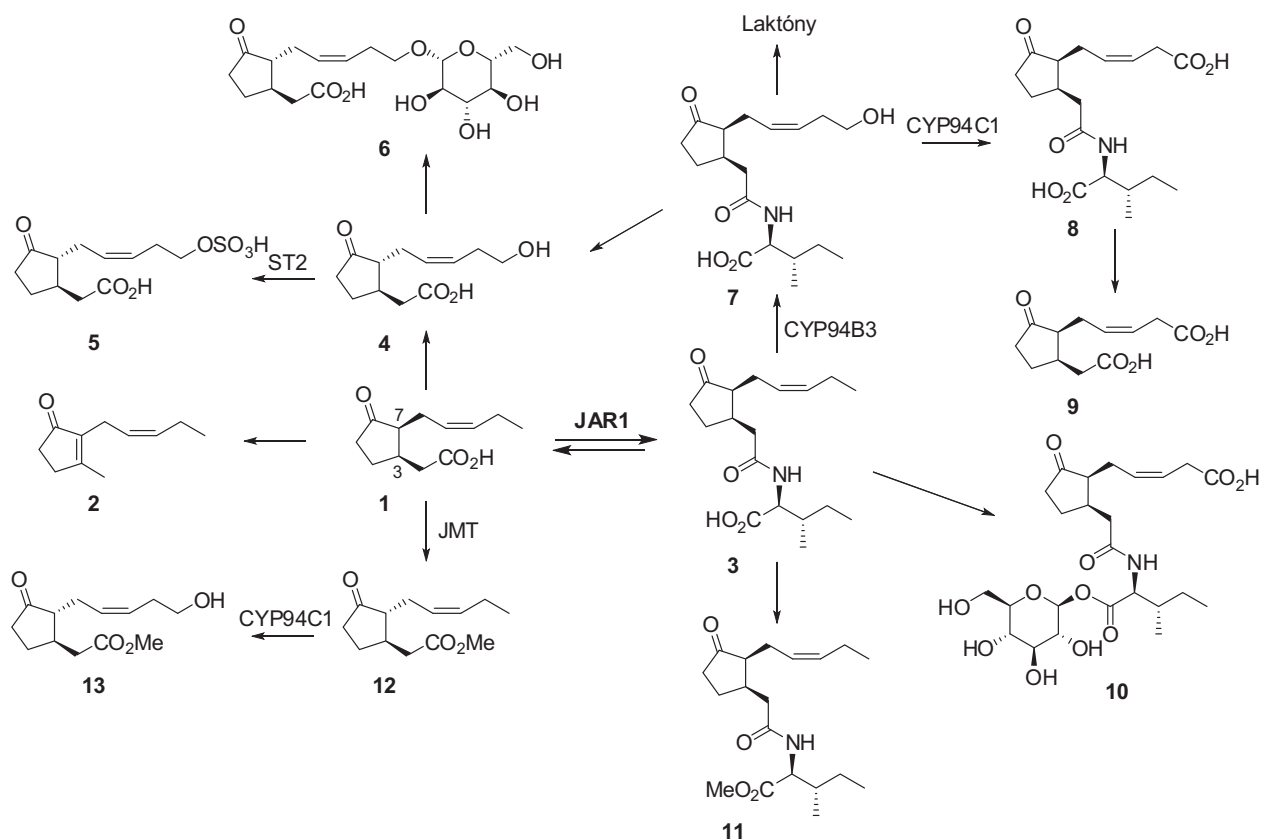
4. Metabolické cesty kyseliny jasmónovej

JK, rovnako ako ostatné rastlinné molekuly, je viacerými metabolickými cestami premieňaná na aktívne, neaktívne či čiastočne aktívne metabolity (obr. 2)²³. Sledovaním osudu JK v rastlinných orgánoch bolo detegovaných šesť hlavných ciest jej metabolizmu:

Konjugácia

Po prvej izolácii metyljasmonátu a JK sa dlhý čas predpokladalo, že práve tieto jasmonáty sú aktívnymi molekulami v rastlinných fyziologických alebo stresových

reakciách. Neskôr sa objasnením štruktúry jasmonátového receptora a jasmonátovej signálnej dráhy prišlo na fakt, že pre správnu funkciu tejto signálnej dráhy je dôležitá tvorba jasmonoyl-L-izoleucínu konjugáciou JK s aminokyselinou L-izoleucínom²⁴. Konjugácia prebieha za účasti špecifického enzýmu jasmonoyl-L-izoleucínsyntetáza 1 (JAR1), z rozsiahlej skupiny adenylujúcich enzýmov. Najskôr sa vytvorí adenylovaný intermediát za uvoľnenia difosfátu, následne sa napojí aminokyselinový zvyšok a uvoľní AMP (adenozínmonofosfát). Vo výsledku vzniká najaktívnejší epimér (3*R*,7*S*)-jasmonoyl-izoleucín [(+)-7-*izo*-Ja-Ile]²⁵. Množstvo aktívneho (+)-7-*izo*-Ja-Ile hrá dôležitú úlohu vo všetkých procesoch závislých od JK a jeho hladina je udržiavaná okrem JAR1 aj ďalšími reakciami: hydroxyláciou, karboxyláciou a hydrolyzou konjugátov²⁵. Okrem konjugátu s L-izoleucínom boli nedávno identifikované konjugáty aj s inými aminokyselinami s nižšou biologickou aktivitou, (+)-7-*izo*-Ja-alanín, (+)-7-*izo*-Ja-valín, (+)-7-*izo*-Ja-leucín a (+)-7-*izo*-Ja-metionín²⁴.



Obr. 2. **Metabolizmus kyseliny jasmónovej** (spracované podľa⁷). CYP94B3, CYP94C1 – členovia podrodiny cytochrómu P450, JAR1 – jasmonoyl-izoleucínsyntetáza 1, JMT – jasmonátmetyltransferáza, ST2 – hydroxyjasmonát-sulfotransferáza, 1 – kyselina (+)-7-*izo*-jasmónová, 2 – *cis*-jasmón, 3 – (+)-7-*izo*-jasmonoyl-izoleucín, 4 – 12-hydroxyjasmonová kyselina, 5 – sulfoderivát kyseliny jasmónovej, 6 – glukozid kyseliny jasmónovej, 7 – 12-hydroxyjasmonoyl-izoleucín, 8 – 12-karboxyjasmonoyl-izoleucín, 9 – 12-karboxyjasmonová kyselina, 10 – glukosid jasmonoyl-izoleucínu, 11 – metyljasmonoyl-izoleucín, 12 – metyljasmonát, 13 – 12-hydroxymetyljasmonát

Hydroxylácia a karboxylácia

Dlhý čas neboli dostupné dôkazy o priamej hydroxylácii JK na kyselinu 12-hydroxyjasmonovú, no nedávno boli z *A. thaliana* (arábkovka) izolované štyri gény pre tzv. jasmonátom indukované 2-oxoglutarát oxygenázy, ktoré hydroxyláciou rastlinných hormónov prispievajú k zníženiu ich aktivity, teda aj expresie jasmonát-dependentných génov²⁶. Hydroxylácie konjugovaných jasmonátov katalyzujú tri enzýmy CYP P450 patriace do podrodiny CYP94: CYP94B1, CYP94B3 a CYP94C1, ktoré hydroxylujú posledný uhlík pentenylového bočného reťazca (+)-7-*izo*-Ja-Ile za vzniku 12-hydroxyjasmonoyl-L-izoleucínu, ktorého hydroxyskupinu je schopný ďalej oxidovať len CYP94C1 až na neaktívny 12-karboxyjasmonoyl-izoleucín. Tento sled reakcií tzv. ω -oxidácie je prevažujúcou vetvou katabolizmu JK. Pokračovaním týchto procesov je hydrolýza, teda odštiepenie aminokyselinových zvyškov amidohydrolázami^{27,28}. Zaujímavým derivátom, vznikajúcim z 12-hydroxyjasmonoyl-L-izoleucínu, je bioaktívny jasmón (ketolaktón), čo dokazuje, že aj neaktívne zlúčeniny môžu byť konvertované na aktívne deriváty, laktóny²⁹.

O-glukozylácia

Glykolyzácia, najmä glukozylácia, je základnou modifikáciou sekundárnych metabolitov a hormónov. V prípade jasmonátov bola kyselina 12-hydroxyjasmonová a jej O-glukozylový derivát popísané ako faktory indukujúce tvorbu hlúz *Solanum tuberosum* L. (ľuľok zemiakový)²⁰.

Sulfatácia

Jasmonáty vzniknuté hydroxyláciou a karboxyláciou podliehajú okrem O-glukozylácie v menšej miere aj sulfatácii sprostredkovanvej sulfotransferázami, ktoré ako donora sulfurylovej skupiny používajú 3'-fosfoadenozín-5'-fosfosulfát³⁰. Najčastejšie prebieha sulfatácia jasmonátov enzýmom hydroxyjasmonát:sulfotransferáza 2, ktorá vykazuje striktnú afinitu len k hydroxyderivátom JK (cit.³¹).

Metylácia a esterifikácia

Prvý izolovaný derivát JK, metyljasmonát, bol pred objasnením jasmonátovej signálnej dráhy považovaný za aktívnu formu JK. V súčasnosti je už známe, že metyljasmonát nemá afinitu k jasmonátovému receptoru, no jeho zvýšená koncentrácia pri raste či strese sú tzv. rezervoárom pre syntézu JK, ktorá sa vytvára účinkom nešpecifických esteráz, a následnou konjugáciou vzniká aktívny stereoizomér (+)-7-*izo*-Ja-Ile (cit.³²). V prípade, že nie je prebytok JK nevyhnutný, nastáva metylácia karboxylovej skupiny katalyzovaná karboxylmetyltransferázou³³.

Dekarboxylácia

Posledným dôležitým procesom metabolizmu JK je odstránenie karboxylovej skupiny za vzniku prchavého ketónu *cis*-jasmónu. Okrem priamej cesty dekarboxylácie JK vzniká *cis*-jasmón aj alternatívne z *cis*(+)-OPDA, izomerizáciou na *izo*-OPDA, nasledovanou β -oxidáciou na kyselinu 3,7-didehydrojasmonovú a dekarboxyláciou až na *cis*-jasmón. Aj keď sa *cis*-jasmón aktívne neviaže na jasmonátový receptor, podieľa sa na expresii génov odlišných od tých, ktoré sú aktivované jasmonátovou signálnou dráhou a jeho biologická aktivita spočíva v lákaní opelvačov a obrane rastliny po napadnutí hmyzom²⁰.

5. Jasmonátová signálna dráha

Adaptácia rastlín na neustále zmeny v prostredí vyžaduje komplexnú integráciu vonkajších faktorov a rastlinných vnútorných vývojových a obranných procesov. Táto integrácia závisí na zložitých, vzájomne prepojených signálnych dráhach, ktoré aktivujú adaptačné mechanizmy. Jasmonáty patria k najvýznamnejším signálnym molekulám zapojeným v týchto dráhach. Podieľajú sa na adaptácii na biotický aj abiotický stres, a koordinujú niekoľko významných procesov rastu a vývoja rastlín (rast koreňov, plodnosť a iné)³⁴.

Pilierom jasmonátovej signálnej dráhy je vytvorenie aktívnej formy JK ako odpoveď na signál z vonkajšieho alebo vnútorného prostredia. Aktívnou formou je konjugát (+)-7-*izo*-JA-Ile (cit.^{24,25}), ktorý sa viaže na koreceptorový komplex pozostávajúci z F-box proteínu coronatine-insensitive 1 (COI1) a jasmonate-ZIM-domain proteínu (JAZ)³⁵. COI1, ako F-box proteín, je súčasťou multiproteínového komplexu ubikvitín-proteín ligázy (SCF komplex), teda enzýmu ubikvitín-proteázomového systému, ktorý je centrálnym regulátorom rastlinných signálnych dráh³⁶. Ubikvitinácia je posttranslačnou modifikáciou zahŕňajúcou naviazanie ubikvitínu, kovalentnou väzbou na proteíny, ktoré sa takto označujú pre degradáciu 26S proteázómom. Celý proces prebieha systémom troch enzýmov: ubikvitín-aktivujúci enzým aktivuje ubikvitín, prenesie ho na ubikvitín konjugujúci enzým, ten ho prenesie na vyššie spomínanú ubikvitín-proteín ligázu (SCF-komplex), ktorá sa priamo viaže na proteín. SCF-komplex, ako viaczložková ubikvitín-proteín ligáza, je zložený zo štyroch podjednotiek – SKP1-like proteínu1 (supresor kinetochorového proteínu1), Cullin1, RING-box1 proteínu a F-box proteínu, čo je práve COI1. F-box proteín je zložený z 50 aminokyselín, jeho C-koniec má tvar podkovy a obsahuje veľké množstvo leucínových zvyškov tvoriacich slučky, ktorými sa viaže na (+)-7-*izo*-JA-Ile (cit.^{37–39}). Cieľovými molekulami pre väzbu SCF-komplexu, po naviazaní (+)-7-*izo*-JA-Ile, sú tzv. JAZ proteíny. JAZ proteíny sú naviazané na množstvo transkripčných faktorov (TF), ktorých funkciu pri expresii génov blokujú^{40,41}. JAZ proteíny pozostávajú z troch domén s odlišnými funkciami: málo preskúmaná N-koncová doména s pravde-

podobným zapojením do spojenia proteín-proteín, ZIM doména zložená z 30 aminokyselín tvoriaca centrálnu časť JAZ proteínu zodpovedná za jeho dimerizáciu a za spojenie s TOPLESS korepresorom cez špecifický proteín zvaný NINJA, treťou najdôležitejšou doménou je C-koncová Jas (jasmonic acid-associated) doména zapojená do interakcií s inými proteínmi, najmä s TF, ktorých aktivitu potláča. Všetky tri domény sú nevyhnutné pre správnu funkciu JAZ proteínov, teda pre potláčanie jasmonátmi regulovanej expície génov. (+)-7-izo-JA-Ile tvorí tzv. most medzi COI1 a JAZ proteínmi, pri jeho absencii sú JAZ proteíny stabilne viazané na TF blokujú ich funkciu. Po naviazaní (+)-7-izo-JA-Ile, COI1 ako súčasť SCF-komplexu modifikuje JAZ proteín ubikvitináciou pre jeho následnú degradáciu 26S proteazómom^{42,43}. Po rozklade JAZ proteínu sa uvoľní naň naviazaný TF, nasleduje proces transkripcie génov riadenej RNA-polymerázou II. Väčšina JAZ proteínov je naviazaná konkrétne na MYC2 (myelocytchromatóza onkogén) TF, ktorý sa dlhé roky považoval za jediný TF v jasmonátovej signálnej dráhe. Neskôr bola zistená taktiež väzba na podobné faktory z rovnakej skupiny TF, a to MYC3, MYC4 a MYC5 (cit.⁴⁴). MYC2 obsahuje N-koncovú doménu, tou sa pripája na JAZ proteín a doménu aktivujúcu transkripciu, ktorou sa viaže na podjednotku mediátora 25 RNA-polymerázy II (MED25)¹³. Mediátor ako multiproteínový komplex slúži na prenos informácie z TF na RNA-polymerázu II zabezpečujúcu transkripciu. Podjednotka MED25 funkčne spolupracuje s MYC2 a tiež RNA-polymerázou pri naviazaní iniciačného transkripčného komplexu. Zaujímavým je zistenie, že kovalentnou väzbou je MED25 podjednotka spojená s F-box proteínom COI1, ktorý sa pripája na neaktívny MYC2 transkripčný faktor spojený s JAZ proteínmi, čím umožní vzájomne prepojenie COI1 s JAZ proteínom a za účasti (+)-7-izo-JA-Ile je spustený proces ubikvitinácie a degradácie JAZ proteínu^{45,46}. MYC2 pozitívne reguluje väčšinu od JK závislých odpovedí, ako je expresia génov závislá od poranenia, celková odpoveď na poranenie, inhibícia rastu koreňov, syntéza seskviterpénov a obrana proti hmyzu. Ďalšou skupinou TF sú MYB (myeloblastóza onkogén) faktory, napr. MYB21 a MYB24, ktoré sú kľúčovými v dozrievaní tyčínok a peľových zrníek *A. thaliana* (arábkovka)³⁶. V obranných reakciách majú významnú úlohu aj gény exprimované prostredníctvom TF zo skupiny WRKY (podľa heptapeptidu na N-konci WRKYGQK), z ktorých sú niektoré regulované jasmonátovou signalizáciou a väčšina z nich sprostredkuje spoluprácu jasmonátov s ostatnými signálnymi molekulami a rastlinnými hormónmi ako etylénom, auxínom či kyselinou salicylovou^{43,47}.

6. Význam jasmonátovej signálnej dráhy pri vývoji a obrane rastlín

V priebehu posledných desaťročí sa detailným štúdiom jasmonátov a ich vplyvu na rast a vývoj rastlín zaoberalo mnoho výskumov. Aplikovaním exogénnej JK sa

dokázal jej vplyv na inhibíciu rastu zárodku (inhibícia rastu primárneho koreňa, rast kľúčneho lístka)⁴⁸. Vytvorením genetických krížencov s chýbajúcou biosyntézou JK v *A. thaliana* (arábkovka) sa zistilo, že títo mutanti vykazujú samčiu sterilitu vzniknutú zastavením rastu tyčínok. Aplikácia JK však dokáže rast tyčínok obnoviť⁴⁹.

Jasmonáty, endogénne signálne molekuly, sú okrem rastu a vývoja zapojené v rozmanitých mechanizmoch adaptácie na stresové podmienky. Jasmonátova signalizácia sa zapája do regulácie morfológických zmien v stavbe rastlín v reakcii na svetelný stres (vplyvom UV-B žiarenia), pri čom dochádza k zvýšeniu produkcie JK napr. vo *Vigna radiata* (L.) R.Wilczek (fazuľa mungo) z čeľade Fabaceae a *Brassica oleracea* L. (kapusta obyčajná) z čeľade Brassicaceae⁵⁰. Nedávne pokusy odhalili zapojenie jasmonátov v pozitívnej regulácii chladovej aklimatizácie. Vystavenie rastlín chladu viedlo k rapidnému zvýšeniu hladiny JK indukovaním génov kódujúcich enzýmy jej biosyntézy (LOX, AOS, AOC) u *A. thaliana* (arábkovka) a *Oryza sativa* L. (ryža siata) z čeľade Poaceae. Exogénna aplikácia JK posilnila toleranciu *A. thaliana* (arábkovka) voči mrazu a mutanti so zastavenou syntézou JK vykazujú vyššiu citlivosť voči mrazu ako rastliny vo voľnej prírode. Vonkajšia aplikácia JK znižila škody plynúce z vysokého obsahu solí v pôde u viacerých rastlín pomocou zlepšenia fotosyntézy, antioxidačných aktivít a redukcie sodných iónov vo výhonkoch⁵². V praxi sa v posledné roky využíva taktiež zapojenie jasmonátovej signálnej dráhy v tvorbe rozličných sekundárných metabolitov. Pokusmi sa zistilo, že najmä externe aplikovaný metyljasmonát je schopný zvýšiť produkciu viacerých skupín metabolitov⁵³, napr. fenolových kyselín v rastlinách čeľade Lamiaceae – kyseliny salvionolovej B a kyseliny rozmarínovej v *Salvia miltiorrhiza* Bunge (šalvia červenokorená) z čeľade Lamiaceae⁵⁴.

7. Záver

Jasmonáty, deriváty kyseliny jasmónovej, ako produkty oxidácie mastných kyselín rastlinných membrán, sú zaujímavým objektom výskumu po chemickej, ale aj po molekulárno-biologickej stránke. Zapojenie jasmonátov a ich signálnej dráhy do procesov rastu, vývoja a obranných reakcií je známe už niekoľko rokov. Progres v genetike a rastlinných biotechnológiách osvetlil viaceré mechanizmy, ktorými sú jasmonáty do týchto procesov zapojené. Neustále sa meniace životné prostredie a zhoršujúce sa životné podmienky môžu byť v priebehu rokov pre viaceré druhy rastlín fatálnymi. Podrobné štúdium prepojenia fyziologických funkcií s obrannými mechanizmami, ako sú tie vyvolané jasmonátmi a ich signálnou dráhou, je preto stále opodstatnené.

Táto práca bola podporená grantom Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu SR VEGA 1/0284/20 a grantom Farmaceutickej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave FaF/32/2022.

Zoznam skratiek

(+)-7-izo-Ja-Ile	(3 <i>R</i> ,7 <i>S</i>)-jasmonoyl-izoleucín
AMP	adenozínmonofosfát
AOC	allénoxidcykláza
AOS	allénoxidsyntáza
<i>cis</i> -(+)-OPDA	kyselina 12-oxo-10,15(<i>Z</i>)-fytodiénohá
COI1	coronatín-insensitive 1
JAR1	jasmonoyl-L-izoleucínsyntetáza
JAZ proteíny	jasmonát-ZIM-doménové proteíny
JK	jasmónová kyselina
LOX	lipoxygenáza
MED25	podjednotka 25 mediátora RNA-polymerázy II
MYC	myocytomatóza onkogén transkripčný faktor
OPC:CoA ligáza1	kyselina 3-oxo-2(2' <i>Z</i>)-pentenyl)- -cyklopentán-1-oktánová:koenzým A ligáza 1
SCF-komplex	supresor kinetochorový proteín1/ Cullin1/F-box komplex
TF	transkripčný faktor/y

LITERATÚRA

- Griffiths G.: *Free Radic. Res.* **49**, 565 (2015).
- Goossens J., Fernández-Calvo P., Schweizer F., Goossens A.: *Plant. Mol. Biol.* **91**, 673 (2016).
- Larrieu A., Vernoux T.: *BMC Biol.* **16**, 79 (2016).
- Wasternack C., Feussner I.: *Annu. Rev. Plant Biol.* **69**, 363 (2018).
- Wang X., Zhu B., Jiang Z., Wang S.: *Plant Sci.* **287**, 110192 (2019).
- Thomas B., Murray B. G., Murphy D. J. (ed.): *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*. Academic Press, Cambridge 2017.
- Kombrink E.: *Planta* **236**, 1351 (2012).
- Wasternack C.: *Ann. Bot.* **100**, 681 (2007).
- Babenko L. M., Shcherbatiuk M. M., Skaterna T. D., Kosakivska I. V.: *Ukr. Biochem. J.* **89**, 5 (2017).
- Holková I., Rauová D., Mergová M., Bezáková L., Mikuš P.: *Molecules* **24**, 4268 (2019).
- Andreou A., Feussner I.: *Phytochemistry* **70**, 1504 (2009).
- Newcomer M. E., Brash A. R.: *Protein Sci.* **24**, 298 (2015).
- Wasternack C., Song S.: *J. Exp. Bot.* **68**, 1303 (2017).
- Rustgi S., Springer A., Kang Ch., Wittstein D., Reinbothe Ch., Reinbothe S., Pollmann S.: *Int. J. Mol. Sci.* **20**, 3064 (2019).
- Park J. H., Halitschke R., Kim H., Baldwin I., Feldmann K., Feyereisen R.: *Plant J.* **31**, 1 (2002).
- Wasternack C., Feussner I.: *Annu. Rev. Plant Biol.* **53**, 275 (2002).
- González-Pérez A. B., Grechkin A., de Lera A. R.: *Org. Biomol. Chem.* **15**, 2846 (2017).
- Koo A. J.: *Phytochem. Rev.* **17**, 51 (2018).
- Schaller F., Zerbe P., Reinbothe S., Reinbothe C., Hofmann E., Pollmann S.: *FEBS J.* **275**, 2428 (2008).
- Wasternack C., Strnad M.: *Int. J. Mol. Sci.* **19**, 2539 (2018).
- Schaller A., Stintzi A.: *Phytochemistry* **70**, 1532 (2009).
- Stintzi A., Browse J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **97**, 10625 (2000).
- Nakamura Y., Li-Beisson Y. (ed.): *Lipids in Plant and Algae Development*. Springer International Publishing, Cham 2016.
- Yan J., Li S., Gu M., Yao R., Li Y., Chen J., Yang M., Nan F.: *Plant Physiol.* **172**, 2154 (2016).
- Fonseca S., Chini A., Hamberg M., Adie B., Porzel A.: *Nat. Chem. Biol.* **5**, 344 (2009).
- Caarls L., Elberse J., Awwanah M., Ludwig N. R., de Vries M., Zeilmaker T., Van Wees S. C. M., Schuurink R. C., Van den Ackerveken G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **114**, 6388 (2017).
- Koo A. J., Thireault C., Zemelis S., Poudel A. N., Zhang T., Kitaoka N., Brandizzi F., Matsuura H., Howe G. A.: *J. Biol. Chem.* **289**, 29728 (2014).
- Wasternack C., Strnad M.: *New Biotechnol.* **33**, 604 (2016).
- Jimenez-Aleman G. H., Machado R., Gorlz H., Baldwin I. T., Boland W.: *Org. Biomol. Chem.* **13**, 5885 (2015).
- Hirschmann F., Krause F., Papenbrock J.: *Front. Plant Sci.* **5**, 556 (2016).
- Gidda S., Miersch O., Levitin A., Schmidt J., Wasternack C., Varin L.: *J. Biol. Chem.* **278**, 17895 (2003).
- Stitz M., Gase K., Baldwin I. T., Gaquerel E.: *Plant Physiol.* **157**, 341 (2011).
- Preuß A., Augustin C., Figueroa C. R., Hoffmann T., Valpuesta V., Sevilla J. F.: *J. Plant Physiol.* **171**, 1315 (2014).
- Chini A., Gimez-Ibanez S., Goossens A., Solano R.: *Curr. Opin. Plant Biol.* **33**, 147 (2016).
- Zhang L., Zhang F., Melotto M., Yao J., He S.Y.: *J. Exp. Bot.* **68**, 1371 (2017).
- Ali M. S., Baek K-H.: *Int. J. Mol. Sci.* **21**, 621 (2020).
- Williams C., Fernández-Calvo P., Colinas M., Pauwels L., Goossens A.: *J. Exp. Bot.* **70**, 3401 (2019).
- Iglesias M. J., Terrile M. C., Correa-Aragunde N.: *Redox Biol.* **18**, 200 (2018).
- Durand A. N., Pauwels L., Goossens A.: *Plant* **5**, 6 (2016).
- Howe G. A., Yosida Y.: *Mol. Plant.* **12**, 153 (2019).
- Farmer E. E., Goossens A.: *J. Exp. Bot.* **70**, 3373 (2019).
- Larrieu A., Vernoux T.: *BMC Biol.* **14**, 79 (2016).
- Ruan J., Zhou Y., Zhou M., Yan J., Khurshid W. W., Cheng J., Zhang K.: *Int. J. Mol. Sci.* **20**, 2479 (2019).
- Schmiesing A., Emonet A., Gouhier-Darimont C., Raymond P.: *Plant Physiol.* **170**, 2432 (2016).
- Zhai Q., Li Ch.: *J. Exp. Bot.* **70**, 3415 (2019).
- Chen J., Yang S., Fan B., Zhu Ch., Chen Z.: *Int. J. Mol. Sci.* **23**, 6170 (2022).

47. Jiang Y., Liang G., Yang S., Yu D.: *Plant Cell* 26, 230 (2014).
48. Huang H., Liu B., Liu L., Song S.: *J. Exp. Bot.* 68, 1349 (2017).
49. Wasternack C., Forner S., Strnad M., Hause B.: *Biochimie* 95, 79 (2013).
50. Per T. S., Khan M. I. R., Anjum N. A., Masood A., Hussain S. J.: *Env. Exp. Bot.* 145, 104 (2018).
51. Sharma M., Laxmi A.: *Front. Plant Sci.* 6, 1129 (2016).
52. Wang J., Song L., Gong X., Xu J., Li M.: *J. Mol. Sci.* 21, 1446 (2020).
53. Wasternack C., Strnad M.: *New Biotechnol.* 48, 1 (2019).
54. Xing B., Yang D., Liu L., Han R., Sun Y., Liang Z.: *Plant Cell. Tiss. Organ. Cult.* 134, 119 (2018).

M. Mergová^a, A. Balažová^b, M. Obložinský^b, I. Holková^b, P. Mučaji^a, and S. Bittner Fialová^a
(^a *Department of Pharmacognosy and Botany, Faculty of Pharmacy, Comenius University Bratislava* ^b *Department of Cell and Molecular Biology of Drugs, Faculty of Pharmacy, Comenius University Bratislava, Slovakia*):
Jasmonates, Their Biosynthesis, Metabolism and Signalling Pathway in Plant Organisms

Jasmonates, derivatives of jasmonic acid, are lipid-derived oxylipins with cyclopentanone ring, produced as a result of dioxygenation mediated by lipoxygenases. The biosynthesis of jasmonic acid is catalysed by a series of different enzymes, starting from lipoxygenase, allene oxide synthase, allene oxide cyclase and 12-oxophytodienoic acid reductase to the final three rounds of β -oxidation. Consequently, a few metabolites known as jasmonates are formed from the resulting jasmonic acid. Some of these metabolites are active and able to work on the jasmonate receptor and thus start the jasmonate signalling pathway. Products of gene expression resulting from this pathway have a great significance in plant growth, development, reproduction, senescence and also in defence and adaptation to various adverse environmental conditions.

Keywords: jasmonic acid, biosynthesis of jasmonates, jasmonate signalling pathway

Acknowledgements

This study was supported by a grant from the Ministry of Education, Science, Research and Sport of the Slovak Republic and the Slovak Scientific Grant Agency VEGA 1/0284/20 and a grant from the Faculty of Pharmacy Comenius University Bratislava FAF/32/2022.

ORIENTAČNÍ TEST PŘÍTOMNOSTI DERIVÁTŮ FENTANYLOVÉ ŘADY METODOU TENKOVRSŤVÉ CHROMATOGRAFIE

ROMANA JELÍNKOVÁ^a, IVANA MORAVCOVÁ^b a PETR ŽUJA^a

^a Ústav ochrany proti zbraním hromadného ničení Vyškov, Univerzita obrany, Brno, Česká republika, ^b Centrum ochrany proti zbraním hromadného ničení, JCBRN Defence COE, Vyškov, Česká republika
romana.jelinkova@unob.cz

Došlo 1.7.22, přijato 15.12.22.

Článek obsahuje informace o vlastnostech derivátů fentanylu a metodě určené k jejich jednoduché orientační identifikaci. K provedení experimentu byla záměrně zvolena metoda tenkovrstvé chromatografie, která je nejvhodnější metodou pro provedení rychlé analýzy odebraného vzorku v podmínkách provozu polní chemické laboratoře provozované Armádou České republiky. Na základě provedené experimentální práce bylo zjištěno, že jako nejvhodnější soustava pro identifikaci sledovaných derivátů fentanylu prostřednictvím metody TLC je soustava, kde stacionární fázi tvoří „oxid hlinitý 60 F254 neutral“ a mobilní fázi pak ethyl-acetát a hexan v poměru 7:3. Zjištěné poznatky jsou plně využitelné v praxi a budou zahrnuty mezi standardní operační postupy ke stanovení uvedeného typu látek v Polní převozní chemické laboratoři PPCHL-AL2/ch, a to zřejmě ve formě certifikované metodiky.

Klíčová slova: nové psychoaktivní substance, carfentanil, lofentanil, ocfentanil, thiofentanil, tenkovrstvá chromatografie

Úvod

Skupina látek pod označením „nové psychoaktivní substance“ (NPS) se vyznačuje rozsáhlým spektrem účinků, ať už halucinogenních, tlumivých či stimulačních, na centrální nervovou soustavu organismu. Kromě skupin fenylethylaminů, syntetických kanabinoidů, katinonů, piperazinů, tryptaminů a dalších je odbornou veřejností již několik desítek let diskutována otázka nových syntetických opioidů (NSO), které byly v 60. letech minulého století syntetizovány původně za účelem nahrazení morfinu při zachování analgetických vlastností přípravků stávající pethidinové řady^{1,2}. Syntetické opioidy jsou využívány především k léčbě chronické bolesti a jako anestetika při chirurgických výkonech v humánní i veterinární praxi. Do této skupiny jsou zahrnovány stovky analog fentanylu s různou účinností, v humánní medicíně jsou používány jeho deriváty alfentanil, remifentanil a sufentanil^{3,4}, ve veterinární praxi nachází uplatnění převážně sufentanil a carfentanil^{5,6}.

Další existující deriváty fentanylu jako např. acetyl-fentanil, akryloylfentanil, α -ethylfentanil, 2-fluor-fentanil, butyrylfentanil, krotonylfentanil, cyklopropyl-fentanil, furanylfentanil, methoxyfentanil, ocfentanil, tetrahydrofuranylfentanil, valerylfentanil, 4-fluoroisobutyrylfentanil, β -hydroxythiofentanil, cis-3-methylfentanil, methakrylfentanil, trans-3-methylfentanil, 4-chlorisobutyrylfentanil, 4-fluorofentanil a další, jsou mnohdy nacházeny forenzní analýzou biologických mate-

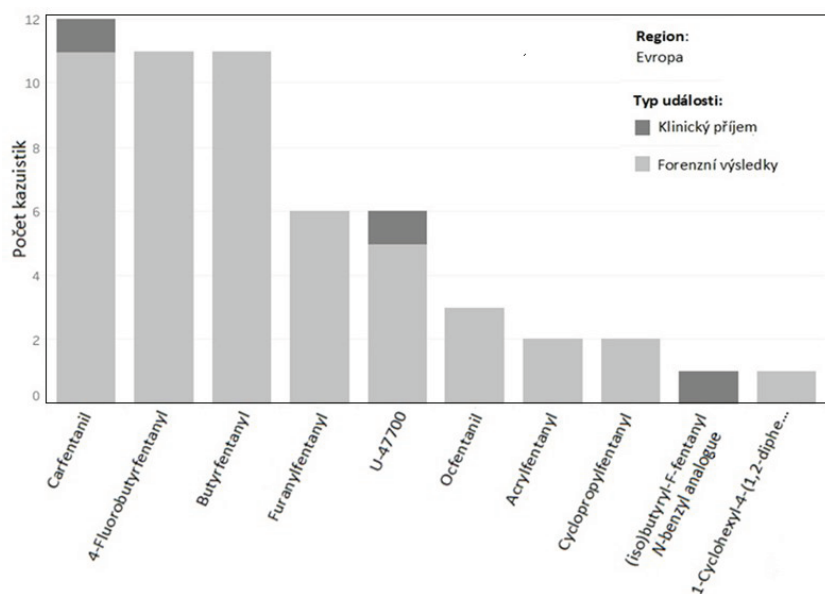
riálů u drogově závislých obětí, a to ve velmi nízkých koncentracích⁷⁻⁹.

Tyto látky jsou ve velké míře syntetizovány v nelegálních asijských laboratořích a prodávány prostřednictvím internetu, a to buď jako samostatné produkty, nebo ve směsi s dalšími psychoaktivními látkami, případně jsou distribuovány jako padělané opioidní léky. Tzv. opioidová krize, především ve Spojených státech amerických, je navíc umocněna vysokým a stále rostoucím počtem fentanylových i nefentanylových derivátů, obecně látek s vysokou afinitou vůči opioidním μ -receptorům^{10,11}.

Podle Úřadu OSN pro drogy a kriminalistiku (UNODC) jsou v Evropě hlášeny výsledky forenzních analýz a klinických nálezů nejčastěji užívaných opioidních látek; k datu 5. 5. 2022 figuruje na předním místě carfentanil (obr. 1)¹².

K rychlé, orientační identifikaci vybraných derivátů fentanylu byla v tomto případě záměrně zvolena metoda tenkovrstvé chromatografie (TLC), a to vzhledem k tomu, že je vhodná k provedení poměrně rychlé analýzy odebraného vzorku v podmínkách provozu mobilní chemické laboratoře. Mobilní chemické laboratoře provozované Armádou ČR disponují speciálním sofistikovaným technickým vybavením, mají však také určitá provozní omezení ve srovnání se standardními stacionárními laboratořemi.

Mnohé psychoaktivní látky jsou vnímány jako vojensky významné; z tohoto důvodu je opodstatněná snaha vybavit laboratoře Armády ČR kromě modernějších analytických metod jejich stanovení i vhodnou metodikou na



Obr. 1. Kazuistika klinických a forenzních nálezů fentanylových analog

bázi osvědčené jednoduché a finančně nenáročné TLC. Mezi zneschopňující psychotropní látky, tzv. kalmativa, jsou zařazeny i syntetické opioidy fentanylového typu, proto lze za určitých podmínek předpokládat i jejich možné vojenské či nevojenské zneužití k provedení kontaminace zájmového prostoru s následkem zneschopnění nebo usmrcení člověka.

Vlastnosti vybraných derivátů

V současné době existují stovky derivátů fentanylu, známé též pod souhrnným označením „fentals“, přesto jsou podrobnější informace o jejich vlastnostech publikovány v minimální míře. Analoga fentanylové řady si bezesporu zaslouhují rozsáhlejší studium zaměřené ať už na doplnění vlastností látek, nebo na možnosti jejich rychlé a exaktní identifikace. Pro tuto studii byla vybrána dostupná analoga fentanylu, viz tabulka I, z nichž carfentanil, lofentanil a ocfentanil jsou zařazeny do Seznamu návykových látek podle nařízení vlády č. 463/2013 Sb.

Tabulka I
Chemické názvy sledovaných analytů

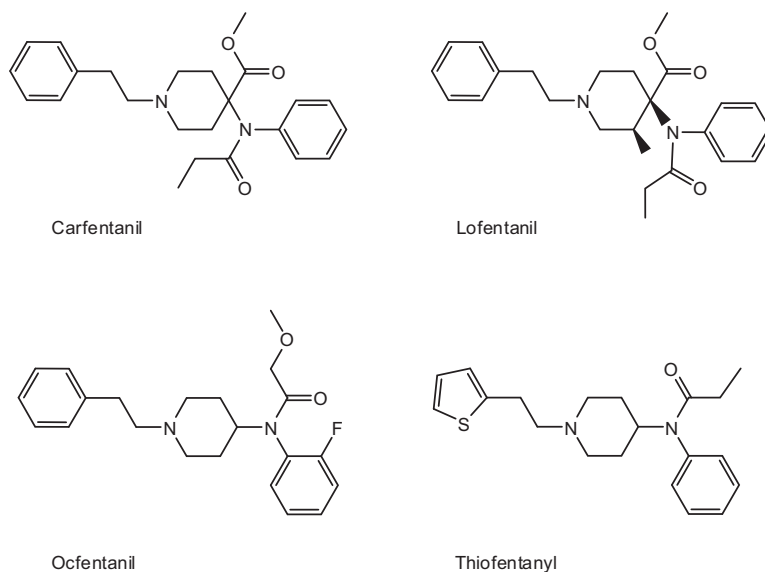
INN *	Chemický název podle IUPAC
Carfentanil	methyl-1-fenethyl-4-(<i>N</i> -fenylopropanamido)piperidin-4-karboxylát
Lofentanil	(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-3-methyl-1-(2-fenylethyl)-4-(<i>N</i> -propanoylanilino)piperidin-4-karboxylát
Ocfentanil	<i>N</i> -(2-fluorfenyl)-2-methoxy- <i>N</i> -[1-(2-fenylethyl)piperidin-4-yl]acetamid
Thiofentanil	<i>N</i> -{1-[2-(<i>thienyl</i>)ethyl]piperidin-4-yl}propanamid

* INN (mezinárodní nechráněný název)

Carfentanil

Carfentanil je uváděn jako nejúčinnější užívaný opioid, který byl syntetizován firmou Janssen-Pharmaceutical v roce 1974. V rámci vylepšení dosahovaného výtěžku syntézy byl postup modifikován a v roce 1992 byl produkt v USA patentován jako účinné analgetikum skupiny *N*-alkyl-4-substituovaných 4-piperidinylamidů pod číslem 5,106,983 (cit.¹³). Látka v pevném skupenství s chemickým vzorcem C₂₄H₃₀NO₃, dostupná jako analytický referenční materiál, má světle žlutou barvu a je dobře rozpustná v chloroformu, dichlormethanu a ethyl-acetátu.

V porovnání s morfinem dosahuje účinek carfentanilu až 10 000× vyšších hodnot. Ve veterinární praxi je využíván k tranquilizaci velkých zvířat, jako jsou sloni, nosorožci, hroši, medvědi a další. Pro účely v humánní medicíně není jeho používání s ohledem na nízký terapeutický index povoleno. Carfentanil je však ilegálně vyráběn a prodáván na tzv. „darknetu“, mnohdy ve směsi s heroinem nebo dalšími drogami¹⁴. Stejně jako ostatní opioidy vykazuje nežádoucí účinky jako miózu, bradykardii,



Obr. 2. Strukturální vzorce analog fentanylu

nauzeu, euforii, svědění, obstipaci. Smrt uživatelů při předávkování je způsobena rigiditou hrudního svalstva. Smrtná dávka nalezená v krvi obětí se pohybuje v rozsahu $0,11\text{--}0,88\text{ ng ml}^{-1}$ (cit.¹⁵).

V Institutu klinické a experimentální medicíny v Praze byly v 90. letech minulého století prováděny studie vlivu carfentanilu nejen na zvířata pražské ZOO, ale i na dobrovolníky z řad zdravotních sester. Bylo zjištěno, že prahová dávka carfentanilu u člověka je pouhých $1\text{--}2\text{ }\mu\text{g}$ (cit.¹⁶).

Ocfentanil

Ocfentanil ($\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{FN}_2\text{O}_2$) byl poprvé popsán patentem z roku 1986. Látka byla získána za účelem získání opioidu s vyšším terapeutickým indexem v porovnání s fentanylem. V molekule ocfentanilu byla propionamidová skupina fentanylu nahrazena methoxyacetamidem a byla provedena adice fluoru na *N*-fenylový kruh¹⁷. Klinické studie analgetické aktivity u myši potvrdily cca $2,5\times$ vyšší účinnost oproti fentanylu. Některé studie uvádějí, že dávka $3\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$ ocfentanilu vyvolaly u pokusných osob úroveň analgezie odpovídající $5\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$ fentanylu^{18,19}.

Lofentanil

Lofentanil ($\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3$) je derivát podobný carfentanilu. V porovnání s carfentanilem vykazuje o něco vyšší účinky na organismus, ale vzhledem k jeho vysoké lipofilítě a delší době trvání účinku oproti ostatním derivátům fentanylu se k lékařským úkonům nepoužívá. V současné

době je s ohledem na bezpečnostní profil tohoto analgetika studován jeho vliv na μ -receptory centrální nervové soustavy^{20–22}. Studium účinnosti 5 derivátů fentanylu bylo zjištěno již v roce 1988 relativní pořadí míry analgetického epidurálního účinku u potkanů v pořadí od nejvyšších hodnot k nejnižším následovně: lofentanil, carfentanil, sufentanil, fentanyl, alfentanil²³.

Thiofentanyl

Thiofentanyl ($\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{OS}$) je derivát fentanylu, který v humánní medicíně není dosud akceptován. V porovnání s morfinem je jeho analgetický účinek u hlodavců $60\text{--}100\times$ vyšší²⁴. V jeho syntéze je uplatněna reakce arylaminoskupiny *N*-feny-1-[2-(2-thienyl)ethyl]piperidin-4-aminu s propanovou kyselinou, tudíž jeho struktura obsahuje kromě piperidinového kruhu a anilidové skupiny i thiofenovou část^{25,26}. Vybrané vlastnosti derivátů jsou uvedeny v tabulce II.

Tenkovrstvá chromatografie a další metody používané k analýze fentanylu a jeho analog

TLC je využitelná k rychlé a jednoduché analýze široké škály zájmových látek i optimalizaci separačních podmínek pro moderní kolonové chromatografické systémy. Princip metody spočívá v rozdělení jednotlivých látek mezi pohyblivou (mobilní) fází rozpouštědla a pevnou (stacionární) fází tenké vrstvy. K vyjádření míry změny koncentrace dané látky se užívá veličina zvaná adsorpční koeficient. Obvyklá velikost pórů sorbentů uží-

Tabulka II
Vybrané vlastnosti sledovaných analytů

Vlastnosti látek	Carfentanil	Lofentanil	Ocfentanil	Thiofentanil
Molekulární hmotnost, g mol ⁻¹	394,5	408,5	370,5	342,5
Rozpustnost ve vodě (25 °C), mg l ⁻¹	4,21	0,67	–	–
pKa	8,05	8,36	–	–
LD ₅₀ (iv. myš), mg kg ⁻¹	3,39	0,066	–	20

vaných v TLC jsou 4, 6, 8 a 10·10⁻³ μm. Nejčastěji užívanou stacionární fází v tenkovrstvé chromatografii jsou silikagel a oxid hlinitý^{27,28}.

Postupné zdokonalování materiálů průmyslově vyráběných tenkých vrstev umožňuje využití tenkovrstvé chromatografie i v podmínkách polní analýzy. Touto metodou byly dosud stanovovány bojové chemické látky v polní přenosné laboratoři PCHL-3 (cit.²⁹) polské armády a TLC soupravou pro polní analýzu bojových chemických látek, výbušnin a drog disponuje Forensic Science Center v San Francisku, USA³⁰.

V České republice byly k polní chemické kontrole vytvořeny metodické postupy identifikace vybraných bojových chemických látek jako např. sarinu, somanu, tabunu, yperitu, látky se střední těkavostí IVA, z psychotropních látek pak morfinu, codeinu, kokainu, látky BZ, fencyklidinu, skopolaminu, fytostigminu a některých dalších³¹. Vzhledem k dostupnosti standardů fentanylu a jeho analog jsou pro armádní mobilní chemickou laboratoř vyvíjeny metody s využitím jednoduché tenkovrstvé chromatografie v posledních letech³². Některé deriváty fentanylu byly metodou tenkovrstvé chromatografie zkoumány v civilní sféře; za použití Dragendorfova činidla a mobilní soustavy chloroform/benzen/methanol byly kromě fentanylu analyzovány např. jeho deriváty acetyl-fentanil, *p*-fluorofentanil, *p*-chlorofentanil, 3-methyl-fentanil a další^{33,34}. K rychlému určování fentanylu využívají především policejní složky předběžné kvalitativní imunochemické testy s vyhodnocením zbarvení proužků testovacích souprav, např. rychlý orientační test německé firmy Nal von minden, původně vyvinutý ke kontrole biologických vzorků. Kontrola přítomnosti drogy se provádí i testy firmy ulti med Products (Deutschland) GmbH s uvedenou mezní hodnotou koncentrace kontrolované látky 200 ng ml⁻¹ a mnohé další jako např. kanadské firmy BTNX Inc. a Rapid Self Test Inc.³⁵.

Tyto rychlé, finančně nenáročné a z hlediska nutnosti obsluhy jednoduché metody však nejsou vždy dostačující zejména pro potřebu identifikace konkrétní neznámé sloučeniny, proto jsou doplňovány či zcela nahrazovány sofistikovanějšími metodami, především kapalinovou nebo plynovou chromatografií ve spojení s hmotnostní spektrometrií^{35–38}. Vybraná analoga fentanylu jsou ve stacionárních laboratořích Ústavu ochrany proti zbraním hromadného ničení Univerzity obrany analyzována též spektrálními metodami v oblasti UV/Vis a infračerveného záře-

ni^{39,40}. Je však potřeba podotknout, že mnohé moderní přístroje jsou ideálně využitelné ve stacionárních chemických laboratořích; pro použití v podmínkách mobilních chemických laboratoř je nutno jejich využití zvážit především s ohledem na rozměry, hmotnost a robustnost potřebných přístrojových sestav a stanoveným omezením pro jejich provoz v terénních podmínkách.

Experimentální část

Chemikálie a příslušenství

Byly použity následující standardy: standard carfentanilu a lofentanilu ve formě bílého až světle žlutého prášku vyráběné firmou TRC Kanada, ocfentanilu hydrochloridu vyráběného firmou Chiron, a.s., a thiofentanilu hydrochloridu vyráběného firmou Chiron a.s., u nichž nebyla výrobcem uvedena čistota. Látky byly aplikovány na desky ve formě methanolvých roztoků.

TLC byla prováděna na deskách Alufolien silica gel 60 F₂₅₄ a Alufolien aluminium oxid 60 F₂₅₄ neutral (Merck, Německo). Chemikálie použité pro přípravu mobilních fází a detekčních činidel měly čistotu p.a. pro UV nebo pro HPLC a byly vyrobeny firmami Penta, Lach:ner Česká republika, Merck, Německo a Sigma-Aldrich USA.

TLC byla prováděna na vybavení od firmy CAMAG, Švýcarsko sestávající z dělených kapilár určených k aplikaci 1 až 5 μl vzorku, dvouztlábkových skleněných chromatografických komor, prohlížecího boxu vybaveného UV lampou a boxu pro postřík vzorků. Rozprašovač byl dodán firmou Desaga.

Způsoby detekce látek vhodnými činidly

Použité chromatografické desky jsou nasyceny fluorescenčním indikátorem, což umožňuje zjištění polohy skvrn pomocí UV světla o vlnové délce 254 nm ještě před derivatizací vhodným činidlem.

Nejčastěji užívaným činidlem k detekci fentanylu a jeho derivátů je Dragendorffovo činidlo⁴¹, které s terciárními aminy poskytuje oranžově zbarvené skvrny na žlutém pozadí. Činidlo se připravuje ze dvou roztoků následujícího složení: Roztok I – 850 mg hydroxidodusičnanu bismutitého se rozpustí v 40 ml vody a přidá se 10 ml octové kyseliny. Roztok II – 8 g jodidu draselného

se rozpustí ve 20 ml vody. Oba roztoky se smíchají a v hnědé lahvi jsou stálé několik měsíců. Pro postřik se smísí 10 ml zásobního roztoku s 20 ml koncentrované octové kyseliny a 100 ml vody.

Dalším vhodným způsobem detekce je postřik kombinací roztoků síranu měďnatého a jodidu draselného⁴². Řádně vysušená deska se postříká okyseleným 0,3 M CuSO₄ (k 100 ml roztoku přidány 3 kapky koncentrované kyseliny sírové) a poté 0,3 M KI. Výsledkem jsou oranžovo hnědé skvrny na tyrkysovém pozadí, je-li jako sorbent použit silikagel; v případě oxidu hlinitého jsou skvrny zbarveny modročerně a pozadí je nažloutlé.

Pracovní postupy

Pro TLC byly použity chromatografické desky o rozměrech 10 × 10 cm. Desky byly před použitím promyty methanolem, vysušeny a aktivovány při teplotě 100 °C. Analyty byly nanášeny ve formě methanolového roztoku na start umístěný 1 cm od okraje desky.

Chromatografické komory byly syceny po dobu 10 min parami vybrané mobilní fáze. Desky s nanesenými

látkami byly v nasycené komoře kondicionovány 10 min a poté vyvíjeny, dokud čelo mobilní fáze nedosáhlo vzdálenosti 8 cm od startu.

Po vyjmutí a důkladném vysušení vyvinutých desek byla prováděna detekce analytů. Nejprve byla poloha skvrn posouzena pozorováním pod UV lampou při vlnové délce 254 nm a následně byly desky postříkány zvoleným detekčním činidlem. Barevné skvrny byly bezprostředně po postřiku označeny a byly změřeny a zaznamenány R_f jednotlivých látek.

Výsledky a diskuse

V práci bylo prověřeno celkem 12 vyvíjecích soustav. V šesti případech byl stacionární fází Silikagel 60 F₂₅₄ v kombinaci s danou mobilní fází (tab. III), v dalších šesti byl sorbentem oxid hlinitý (tab. IV). U jednotlivých vyvíjecích soustav byla posuzována především kvalita rozdělení derivátů (tj. rozdílnost jejich R_f) a dále byl sledován čas potřebný k vyvinutí chromatogramu.

Tabulka III

Přehled mobilních fází při použití stacionární fáze Silikagel 60 F₂₅₄ (Merck)

	Mobilní fáze	t _R ^a [min]	Retenční faktor analytů (R _f)			
			Carfentanil	Lofentanil	Ocfentanil	Thiofentanil
1	Benzen – ethanol (8:2)	12	0,53	0,59	0,43	0,54
2	Hexan – ethanol (8:2)	10	0,20	0,30	0,09	0,24
3	Ethyl-acetát – methanol – amoniak (30:3:0,5)	11	0,51	0,61	0,40	0,55
4	Chloroform – aceton – amoniak (20:10:0,3)	12	0,48	0,61	0,44	0,54
5	Ethyl-acetát – ethanol (9:1)	12	0,33	0,53	0,18	0,34
6	Acetonitril – ethanol (9:1)	9	0,15	0,28	0,10	0,14

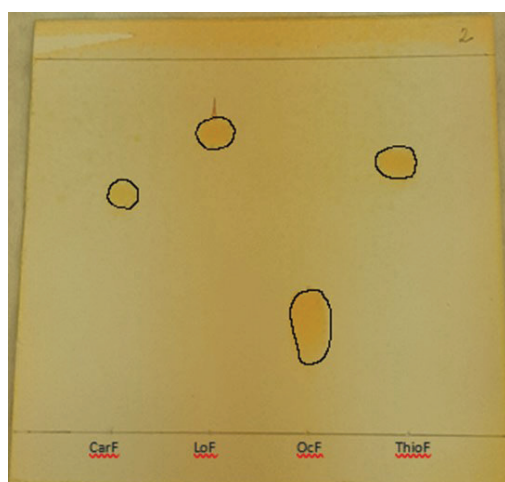
^a t_R = doba vyvíjení chromatogramu

Tabulka IV

Přehled mobilních fází při použití stacionární fáze Oxid hlinitý 60 F₂₅₄ neutral (Merck)

	Mobilní fáze	t _R ^a [min]	Retenční faktor analytů (R _f)			
			Carfentanil	Lofentanil	Ocfentanil	Thiofentanil
1	Ethyl-acetát	8	0,66	0,80	0,41	0,73
2	Ethyl-acetát – hexan (7:3)	8	0,61	0,79	0,30	0,70
3	Cyklohexan – butanol (8:2)	20	0,89	0,91	0,83	0,90
4	Ethyl-acetát – cyklohexan – methanol (5:4:1)	9	0,81	0,84	0,78	0,84
5	Acetonitril – hexan (7:3)	10	0,70	0,85	0,51	0,79
6	Aceton – hexan (7:3)	7	0,83	0,88	0,71	0,84

^a t_R = doba vyvíjení chromatogramu



Obr. 3. Chromatogram analytů s použitím stacionární fáze Oxid hlinitý 60 F₂₅₄ a mobilní fáze ethyl-acetát – hexan (7:3)

Z hodnot uvedených v tabulce III je zřejmé, že se při použití stacionární fáze Silikagel 60 F₂₅₄ nepodařilo ani v jednom případě jednotlivé analyty uspokojivě rozdělit. Analyty carfentanil a thiofentanil dosahují téměř ve všech uvedených soustavách velmi podobných R_f . Nejlepší výsledky poskytují mobilní fáze č. 3 a 4, nicméně ani tady není rozdíl R_f chromatografovaných analytů zcela dostatečný.

Nejlepšího dělení bylo dosaženo při použití stacionární fáze oxid hlinitý 60 F₂₅₄ neutral pomocí mobilní fáze ethyl-acetát – hexan 7:3 (2), která umožňuje spolehlivé rozlišení monitorovaných derivátů fentanylu na základě rozdílných R_f .

Velmi dobré výsledky na stacionární fázi Oxid hlinitý 60 F₂₅₄ poskytovala též mobilní fáze acetonitril – hexan 7:3 (v tabulce IV číslo řádku 5); i tady bylo dosaženo dostatečně velkých rozdílů mezi R_f jednotlivých analytů.

Po vyvinutí chromatogramu ve vybraných soustavách byla testována citlivost UV detekce u obou výše zmíně-

ných detekčních činidel s ohledem na použité sorbenty (tab. V).

Zatímco u UV detekce nehraje zvolený sorbent prakticky žádnou roli a mez detekce je s výjimkou thiofentanylu stejná, v případě obou činidel je naopak rozdíl v hodnotách meze detekce zřejmý. Pro soustavy, kde je stacionární fázi silikagel, se jako vhodnější jeví činidlo složené ze síranu měďnatého a jodidu draselného. Dobře viditelné skvrny se objevují hned po postřiku a mez detekce přítomných analytů je 250 ng, u thiofentanylu 100 ng. Stejně činidlo vykazuje na oxidu hlinitém vyšší mez detekce, přičemž skvrny jednotlivých analytů se objevují až po chvilce, cca do 1 minuty. Oproti tomu Dragendorffovo činidlo poskytuje výrazně lepší výsledky u soustav se stacionární fází tvořenou oxidem hlinitým.

Z výsledků je patrné, že se při použití silikagelu jako stacionární fáze nepodařilo dosáhnout dostatečně velkého rozdílu R_f zkoumaných analytů. Carfentanil a thiofentanil opakovaně dosáhly téměř stejné vzdálenosti od startu, což znemožňuje jejich rozdělení na základě R_f . Nejlepších dělicích schopností bylo dosaženo u mobilní fáze ethyl-acetát – methanol – amoniak (30:3:0,5), ale ani tady nebyl rozdíl mezi R_f carfentanilu a thiofentanylu dostatečný.

Při vyvíjení, kde byl jako sorbent použit oxid hlinitý, bylo dosaženo nejlepších výsledků u mobilní fáze ethyl-acetát – hexan (7:3). Jednotlivé deriváty vykazovaly dostatečně velké rozdíly R_f a příznivá byla i doba vyvíjení chromatogramu (8 min). U této mobilní fáze byla dále testována její stabilita po dobu 7 dní. Po celý čas sledování se R_f sledovaných analytů neměnily.

Mez detekce prováděné pomocí UV světla (254 nm), zjišťované vizuálně, kdy byla skvrna jasně patrná, se pohybovala okolo jednoho mikrogramu u všech analytů s výjimkou thiofentanylu (750 ng). Z vybraných činidel poskytovaly nejlepší výsledky síran měďnatý v kombinaci s jodidem draselným (na silikagelu) a Dragendorffovo činidlo (na oxidu hlinitém). V obou případech dosáhla mez detekce hodnoty 250 ng pro carfentanil, lofentanil a ocfentanil a 200 ng (Dragendorff na oxidu hlinitém), resp. 100 ng (CuSO₄ + KI na silikagelu) pro thiofentanyl.

Tabulka V

Hodnoty meze detekce analytů na stacionárních fázích

Sorbent	Analyty	Mez důkazu [ng]		
		UV 254 nm	Dragendorff	CuSO ₄ + KI
Silikagel 60 F ₂₅₄	Carfentanil	1000	500	250
	Lofentanil	1000	500	250
	Ocfentanil	1000	500	250
	Thiofentanyl	750	250	100
Oxid hlinitý 60 F ₂₅₄ neutral	Carfentanil	1000	250	1000
	Lofentanil	1000	250	750
	Ocfentanil	1000	250	1000
	Thiofentanyl	500	200	250

Na základě získaných výsledků (dělicích schopností, času vyvíjení a stability MF) byla jako nejvhodnější pro identifikaci sledovaných derivátů fentanylu pomocí TLC vybrána soustava, kde stacionární fázi tvoří „Oxid hlinitý 60 F₂₅₄ neutral“ a mobilní fáze se skládá z ethyl-acetátu a hexanu v poměru 7:3.

Závěr

V práci byly prověřeny možnosti využití TLC pro rychlé určení vybraných sloučenin fentanylového typu v podmínkách polní analýzy. Byly vypracovány optimalizované postupy identifikace jednotlivých analytů a vytvořen návrh systému dělení látek založeného na kombinaci jednoduchých chromatografických soustav a detekčních činidel.

Přestože je v současné době TLC na moderních pracovištích již opomíjena a ve většině stacionárních chemických laboratořích je chromatografická analýza nahrazena sofistikovanými přístroji, stále zaujímá v polní analýze s využitím mobilní chemické laboratoře PPCHL – AL2/ch podstatnou roli v případech nutnosti provedení polní analýzy neznámých vzorků a identifikace zájmových vojensky významných chemických látek pro operační účely.

LITERATURA

- Stanley H. T., Egan D. T., van Aken H.: *Anesthetic Pharmacol.* 106, 2 (2008).
- Vardanyan R. S., Hruba V. J.: *Future Med. Chem.* 6, 385 (2014).
- Sridharan K., Sivaramakrishnan G: *Curr. Clin. Pharmacol.* 14, 2 (2019).
- Jongyoon B., Dang J. P., Jun O. K., Minhyum K., Do Y. K., Eun K. Ch.: *Children* 9, 606 (2022).
- Hedenqvist P., Edner A., Fahlman Å., Jensen-Waern M.: *BMC Vet. Res.* 9, 21 (2013).
- EMCCDA. Carfentanil. Risk Assessment. (2019). https://www.emcdda.europa.eu/publications/risk-assessments/carfentanil_en, staženo 15. dubna 2021.
- WHO. Fifth WHO–UNODC Expert Consultation on New Psychoactive Substances Addressing the challenges of non-medical use of opioids. Meeting Report. Geneva, 2018. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/333385/WHO-EMP-2018.05-eng.pdf>, staženo 26. srpna 2022.
- EMCDDA. Europol Joint Report on a new psychoactive substance: 2-methoxy-*N*-phenyl-*N*-[1-(2-phenylethyl)piperidin-4-yl]acetamide (methoxyacetylfentanyl). Joint Reports. ISSN 1977-7868. https://www.emcdda.europa.eu/publications/joint-reports/methoxyacetylfentanyl_en, staženo 10. listopadu 2021.
- Misalidi N.: *Forensic Toxicol.* 36, 12 (2018).
- Mann B.: National Headlines. <https://www.npr.org/sections/health-shots/2021/04/22/989833102/overdose-deaths-surged-in-pandemic-as-more-drugs-were-laced-with-fentanyl>, staženo 6. srpna 2021.
- Au-Yeung, C., Blewett, L. A.: *Am. J. Public Health*, 109,2:260-262 (2019). doi: 10.2105/AJPH.2018.304789, staženo 9. prosince 2021.
- UNODC. The searchable database of the UNODC Early Warning Advisory. 2022. <https://www.unodc.org/unodc/en/scientists/ewa/data.html>, staženo 23. dubna 2022.
- <https://patentimages.storage.googleapis.com/0e/2c/3a/952e9e2a33e107/US5106983.pdf>, staženo 16. května 2022.
- Zawilska J. B., Kuczyńska K., Kosmal W., Markiewicz K., Adamowicz P.: *Forensic Sci. Int.* 320, 110715 (2021).
- Frisoni P.: *Brain Sci.* 10, 485 (2020).
- Hess L.: *Remedia.* 27, 582 (2017).
- Bilel S., Neto A. J., Arfè R., Tirri M., Gaudioac R. M., Fantinati A., Bernardi T., Boccuto F., Marchetti B., Corli G., Serpelloni G., De-Giorgio F., Malfacini D., Trapella C., Calo G., Marti M.: *Neuropharmacology* 209, 109020 (2022).
- Dussy F. E.: *J. Anal. Toxicol.* 40, 761 (2016).
- Fletcher J. E.: *Anesth. Analg.* 73, 622 (1991)
- Qu Q., Huang W., Aydin D., Paggi M. J., Seven B. A., Wang H., Chakraborty S. Che T., DiBerto F. J., Robertson J. M., Asuka A., Roth L. B., Majumdar S., Dror O. R., Kobilka K. B., Skiniotis G.: *BioRxiv*. 2021, doi: <https://doi.org/10.1101/2021.12.07.471645>
- Hess L.: *Remedia.* 21, 270 (2011).
- Xie B., Goldberg A., Lei S.: *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 20, 2309 (2022).
- Meert T. F.: *Eur. J. Anaesthesiol.* 5, 313 (1988).
- WHO Expert Committee on Drug Dependence. Twenty sixth Report. Geneva. (1989). https://www.drugsandalcohol.ie/3759/1/WHO_Expert_committee_26th_report.pdf, staženo 29. března 2021.
- Taghizadeh J. M., Hosseini J. S., Moosavi S. M., Parsa H.: *J. Heterocycl. Chem.* (2020). <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jhet.3983>, staženo 16. března 2021.
- Thiofentanyl hydrochloride. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Thiofentanyl_hydrochloride#section=Structures, staženo 23. června 2022.
- Čůta F.: *Instrumentální analýza*. 1. vyd. SNTL, Praha 1986.
- Jordánová E.: *Porovnání účinnosti preparativní HPLC a TLC. Bakalářská práce*. Západočeská univerzita v Plzni, Plzeň 2013.
- Středa L.: Zpráva ze služební cesty do PLR k úkolu „Protichemická ochrana – vojenský provozní výzkum“. VÚ 070, Brno (1989). Dostupné na Univerzitě obrany.
- Heller A.: Forensic science center - Maximizes the tiniest clue. Forensic Science Center: Lawrence Livermore National Laboratory. 2002. <https://>

- www.lnl.gov/str/Andresonhi.html, staženo 28. března 2014.
31. Skaličan Z., Haláček E., Koblíha Z.: *J. Planar Chromatogr.* 10, 208 (1997).
 32. Moravcová I.: *Tenkvrstvá chromatografie toxických vojensky významných sloučenin. Disertační práce.* Univerzita obrany v Brně, Brno 2014.
 33. Suzuki S., Inoue T., Kashima C.: *Chem. Pharm. Bull.* 3, 1340 (1986).
 34. Suzuki S., Ohta H., Ogasawara K.: *J. Anal. Toxicol.* 4, 280 (1999).
 35. Skov-Skov Bergh, M., Leere Øiestad Å. M., Baumann M. H., Bogen Il. L.: *Int. J. Drug Policy* 90, 103065 (2021).
 36. Jelínková R., Hrdlička J.: *XXIII. Mezinárodní konference o separační chemii a analýze toxických látek, 1. – 2. listopadu 2021, Sborník přednášek (bez editora), str. 52.* Institut ochrany obyvatelstva, Lázně Bohdaneč 2022.
 37. Riches R. J., Robert W. R., Black M R., Cooper J. N., Timperley M. C.: *J. Anal. Toxicol.* 9, 647 (2012).
 38. Noble, C., Papsun M. D., Diaz S., Logan K. B.: *Emerg. Trends Drugs Addict. Health* 2 (2021).
 39. Jelínková R., Koblíha Z., Haláček E.: *The Science for Population Protection* 2, 1803 (2018).
 40. Jelínková R., Kaněčka J.: *Trestně právní a kriminalistické aspekty dokazování, Praha, 25. listopadu 2021, Sborník přednášek (Bruna E., Straus J., ed.) str. 43.* VŠFS, a.s., Praha 2022.
 41. Musumarra G.: *J. Anal. Toxicol.* 7, 286 (1983).
 42. Stadnichenko E. I.: *Farmatsiya* 2, 52 (1991).

R. Jelínková^a, I. Moravcová^b, and P. Žuja^a (^a *Institute of Protection against Weapons of Mass Destruction, Vyškov, University of Defence, Brno, Czech Republic,* ^b *Centre of Protection against Weapons of Mass Destruction, Vyškov, Czech Republic*): **Orientation Test for the Presence of Fentanyl Derivatives by Thin-Layer Chromatography**

The article contains information on the properties of fentanyl derivatives and a method for their simple orientation identification. Thin-layer chromatography (TLC) was deliberately chosen to perform the experiment because it is the most suitable method for rapid analysis of the collected sample under the conditions of the field chemical laboratory operated by the Army of the Czech Republic. On the basis of the experimental work performed, it was found that the most suitable system for the identification of the fentanyl derivatives of interest by TLC is a system where the stationary phase consists of "alumina 60 F254 neutral" and the mobile phase is comprised of ethyl acetate and hexane in a ratio of 7:3. The findings are fully usable in practice and will be included in the standard operating procedures for the determination of these types of substances in the Field Transport Chemical Laboratory PPCHL-AL2/ch, most likely in the form of a certified methodology.

Keywords: new psychoactive substances, carfentanil, lofentanil, ocfentanil, thiofentanyl, thin-layer chromatography

VYUŽITÍ SOMATICKÝCH KOLIFÁGŮ PŘI SLEDOVÁNÍ HYGIENICKÉ NEZÁVADNOSTI RECYKLOVANÝCH ODPADNÍCH VOD

JANA ZUZÁKOVÁ^{a,b}, DAVID JANÁK^a, ELIŠKA VOBECKÁ^{a,b} a JANA ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ^a

^a Ústav technologie vody a prostředí, Fakulta technologie ochrany prostředí, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^b Pražské vodovody a kanalizace, a.s., Ke Kablu 971/1, Hostivař, 102 00 Praha 10, Česká republika
jana.zuzakova@vscht.cz

Došlo 23.3.22, přijato 6.1.23.

Odtoky ze sekundárních stupňů konvenčních mechanicko-biologických čistíren odpadních vod stále obsahují významné koncentrace indikátorů fekálního znečištění poukazující na potenciální přítomnost patogenních organismů. V rámci této práce byl monitorován a diskutován pokles koncentrace somatických kolifágů i bakteriálních indikátorů fekálního znečištění v průběhu technologických stupňů (koagulace, písková filtrace, membránová ultrafiltrace, sorpce na granulovaném aktivním uhlí, dezinfekce, akumulace) poloprovodního zařízení určeného k vícestupňovému terciárnímu dočištění resp. recyklaci vyčištěné odpadní vody. V průběhu terciárního čištění byly lépe odstraňovány bakteriální indikátory než somatické kolifágy, z toho důvodu je zařazení somatických kolifágů mezi indikátory fekálního znečištění při kontrole kvality vody pro opětovné použití zcela namístě. Pro bezpečné opětovné využití vyčištěné vody je nezbytné její následné terciární dočištění včetně zařazené dezinfekce.

Klíčová slova: somatické kolifágy, mikrobiální kontaminace, odpadní voda, recyklace

Úvod

Mikrobiologická kvalita vod (povrchových, podzemních, pitných, odpadních atd.) a jejich hygienická nezávadnost je celosvětově posuzována pomocí tzv. bakteriálních indikátorů fekálního znečištění (FIB – faecal indicator bacteria), mezi které patří koliformní bakterie, termotolerantní koliformní bakterie, *E. coli*, intestinální enterokoky a sulfát redukující klostridia^{1,2}. V pitných vodách jsou z důvodu minimalizace negativních dopadů na veřejné zdraví výše zmíněné ukazatele již řadu let limitovány, a to prostřednictvím hygienických požadavků stanovených v mezinárodních směrnících i právních předpisech jednotlivých zemí^{3,4}. Metodické pokyny a legislativní dokumenty v současné době postupně vznikají také pro vyčištěné odpadní vody určené k opětovnému využití pro nepitné účely, a to v souvislosti s výrazně rostoucím zájmem o recyklaci odpadních vod v důsledku některých globálních problémů, jako jsou populační růst a klimatické změny. Zásadní překážkou pro možnost opětovného využívání vyčištěných odpadních vod je však mikrobiální kontaminace. Je známo, že v odtocích ze sekundárního stupně konvenčních čistíren odpadních vod se kromě patogenních bakterií běžně vyskytují také prvoci, helminti i enterické viry⁵. Kromě výše uvedených organismů je v odtocích z čistíren odpadních vod prokázána i přítomnost viru SARS-CoV-2 (cit.⁶).

Viry v porovnání s bakteriemi vykazují odlišné biologické a morfologické vlastnosti i chování, a to jak v přirozeném vodním prostředí, tak i v průběhu čištění odpadních vod. Z toho důvodu je u vyčištěných odpadních vod určených k opětovnému využití kontrola mikrobiologické kvality spočívající pouze ve stanovení FIB nedostatečná, protože FIB nejsou schopny účinně postihnout přítomnost enterických virů⁷. Vzhledem k tomu, že enterické viry disponují oproti bakteriím vyšší stabilitou a odolností vůči stresovým faktorům, mohou déle setrávat v životním prostředí. Při vystavení lidského organismu kontaminované rekreační nebo pitné vodě či kontaminovaným potravinám mohou viry následně vyvolat onemocnění⁸. V posledních letech bylo po celém světě hlášeno mnoho virových infekcí přenášených vodou. V Evropě byly zaznamenány virové nákazy např. ve Finsku (2007)⁹, Černé Hoře (2008)¹⁰, Itálii (2011)¹¹ a Řecku (2012)¹². Za hlavní příčinu akutních gastroenteritid bývají nejčastěji považovány noroviry, dále viry hepatitidy A, viry hepatitidy E, rotaviry a enteroviry^{13,14}.

Pro detekci enterických virů ve vodním prostředí lze využít standardizované metody, jedná se však o postupy, které jsou ekonomicky náročné, vyžadují laboratoře se speciálním vybavením i proškoleným personálem. Nejsou tedy vhodné pro rutinní monitorování kvality vod¹⁴. Jako potenciální indikátory schopné poukazovat na přítomnost virové fekální kontaminace ve vodách byly navrženy

bakteriofágy. Jedná se o nepatogenní viry infikující výhradně buňky bakterií, přičemž bez bakteriálního hostitele nejsou schopny replikace. Nejčastěji studované z pohledu chování a transportu v souvislosti s fekálním znečištěním vod jsou somatické kolifágy a F-specifické kolifágy infikující buňky bakterií *E. coli*. Somatické kolifágy a F-specifické kolifágy jsou za účelem monitorování kvality vod a posuzování účinnosti čistírenských i úpravárenských technologií při odstraňování virových částic postupně začleňovány do regulačních rámců^{13,15}. Bylo však zjištěno, že somatické kolifágy ve vodním prostředí obecně převyšují počty F-specifických kolifágů³.

Přestože jsou somatické kolifágy skupinou bakteriofágů, které infikují buňky bakterií *E. coli*, bylo zjištěno, že *E. coli* není jejich jediným hostitelem. Somatické kolifágy mohou infikovat také některé další bakterie z čeledi Enterobacteriaceae, např. bakterie *Klebsiella* spp. a *Shigella* spp. (cit.¹⁶). Tyto pro člověka nepatogenní viry jsou považovány nejen za indikátory fekálního znečištění, ale vzhledem k podobné velikosti, struktuře a morfologickým vlastnostem s lidskými enterickými viry rovněž za indikátory přítomnosti virového znečištění ve vodách¹⁷. Jejich spolehlivost při predikci virové kontaminace v povrchových vodách však nebyla zatím jednoznačně prokázána, naopak významná korelace mezi somatickými kolifágy a enterickými viry byla nalezena v nedezinfikovaných odtocích ze sekundárního stupně čistění odpadních vod (ČOV)^{5,13,18}.

Výskyt somatických kolifágů se v městských odpadních vodách celosvětově uvádí v koncentracích o řádu přibližně 10^4 – 10^7 PTJ ve 100 ml (cit.^{2,19–22}). Oproti tomu FIB se v surové odpadní vodě vyskytují přibližně v následujících koncentracích: koliformní bakterie v řádu 10^6 – 10^8 KJT ve 100 ml vody (cit.^{23,24}); *E. coli* v řádu 10^5 – 10^8 KJT ve 100 ml vody (cit.^{2,22}); intestinální enterokoky v řádu 10^4 – 10^7 KJT ve 100 ml vody (cit.^{2,24}). Dle dosavadních znalostí jsou FIB během čištění odpadních vod odstraňovány efektivněji než kolifágy. Konvenční mechanicko-biologické ČOV využívající k čištění aktivovaný kal jsou schopny snížit koncentrace FIB (koliformních bakterií, *E. coli*, intestinálních enterokoků) přibližně o hodnoty 2,0–3,2 na logaritmické stupnici \log_{10} (cit.^{23–25}), zatímco koncentrace somatických kolifágů přibližně o 1,0–2,2 \log_{10} (cit.^{22,25}).

Přestože ČOV jsou schopny významně snižovat mikrobiální znečištění, v odtocích ze sekundárních stupňů čištění jsou stále přítomny vysoké koncentrace FIB včetně patogenních organismů. Při opětovném využití této vody bez následného terciárního dočištění, zahrnujícího rovněž dezinfekci, existuje značné riziko ohrožení lidského zdraví. Cílem této práce bylo vyhodnotit účinnost odstranění somatických kolifágů zařízením určeným pro recyklaci vyčištěné odpadní vody z městské ČOV a porovnat ji s účinností odstranění vybraných FIB (koliformní bakterie, *E. coli*, intestinální enterokoky). Dále byla posouzena korelace mezi koncentracemi somatických kolifágů a FIB v odtoku ze sekundárního stupně dané ČOV.

Experimentální část

Zařízení pro recyklaci vyčištěné odpadní vody

Ke sběru vzorků byla využita poloprovozní jednotka určená pro recyklaci vyčištěné odpadní vody (odtoku ze sekundárního stupně ČOV) a realizovaná v rámci projektu TAČR TH03030080 „Recyklace odpadních vod pro využití ve vodním hospodářství měst budoucnosti“ podpořené Technologickou agenturou České republiky. Poloprovozní jednotka byla umístěna v areálu městské mechanicko-biologické ČOV, kde je v rámci sekundárního stupně biologicky odstraňován dusík pomocí aktivovaného kalu (v procesech nitrifikace a denitrifikace), a dále chemicky sráženy fosforečnany. Vyčištěná odpadní voda není před vyústěním do povrchového vodního toku dezinfikována.

Nátokem na poloprovozní jednotku byl odtok ze sekundárního stupně čistírny. Jednotka byla vybavena řadou technologických modulů sloužících k terciárnímu dočištění vody, přičemž zahrnovala postupně řazenou koagulaci, pískovou filtraci, membránovou ultrafiltraci, sorpci na granulovaném aktivním uhlí (GAU), dezinfekci a akumulaci. Vzorky vod byly odebrány z každého stupně tohoto technologického uspořádání.

Stupeň koagulace byl realizován jako mikrokoagulace v potrubí síranem železitým s přepočtenou dávkou železa $0,7 \text{ mg l}^{-1}$. Dále byla voda vedena přes usazovací nádrž s lamelovou vestavbou na tlakový pískový filtr s tryskovým mezidnem. Výška pískové náplně byla 1,2 m. Jako ultrafiltrační modul byla použita membrána Hydra-Cap Max 40 s dutými vlákny z polyvinylidenfluoridu o vnitřním průměru vláken 0,6 mm a velikostí pórů $0,08 \text{ }\mu\text{m}$. Membrána byla provozována v režimu průtoku vody „out-in“ tzn. z vnější strany membrány směrem dovnitř a „dead-end“ tzn. způsobem podobným koláčové filtraci. Filtrace na GAU typu Filtrasorb F300 probíhala v tlakové nádobě s tryskovým mezidnem a výškou náplně 1 m. Doba kontaktu s GAU byla 14 minut. Dezinfekce byla prováděna dávkováním chlornanu sodného o dávce $4,0 \text{ mg l}^{-1}$ aktivního chloru. Pro akumulaci upravené vody byla použita nádrž o objemu $2,5 \text{ m}^3$ s dobou zdržení 90 min. Koncentrace volného chloru v akumulační nádrži byla průměrně $0,12 \text{ mg l}^{-1}$.

Odběr vzorků

Odběry vzorků byly prováděny jednou týdně v období červen až červenec roku 2020. Celkem bylo provedeno 7 sad odběrů, přičemž každý odběr zahrnoval vzorky vod ze všech technologických stupňů recyklační jednotky, tzn. vstup na jednotku, koagulace, písková filtrace, membránová ultrafiltrace, sorpce na GAU, dezinfekce, akumulace. Vzorky vstupní vody na jednotku tzn. odtoku z městské ČOV (bez dezinfekce) byly odebrány v delším časovém horizontu (květen až říjen 2020) za účelem posouzení případného kolísání koncentrací indikátorů fekál-

ního znečištění a jejich vzájemné korelace. Vzorky vod byly odebírány do sterilních vzorkovnic o objemu 1 litr a následně přepraveny do mikrobiologické laboratoře na Ústavu technologie vody a prostředí VŠCHT Praha, kde byla stanovena přítomnost FIB (*E. coli*, koliformní bakterie, intestinální enterokoky) a somatických kolifágů.

Stanovení množství somatických kolifágů

Množství přítomných somatických kolifágů bylo stanovováno metodou dvouvrstvého agaru dle normy ČSN EN ISO 10705-2 (cit.²⁶), a to s využitím hostitelské kultury kmene *E. coli* CNCTC 5005, který byl získán ze sbírky Státního zdravotního ústavu v Praze. Výsledky byly odečítány jako počet plaky tvořících jednotek (PTJ) v 1 ml vody s mezí detekce 1 PTJ v 1 ml. Plaky jsou projasněná místa vzniklá na plochách misek s médiem. Stanovení každého vzorku bylo provedeno v duplikátu, přičemž při každé sérii vzorků byl vždy stanoven také slepý vzorek jako negativní kontrola.

Stanovení bakteriálních indikátorových organismů

Stanovení *E. coli*, koliformních bakterií a intestinálních enterokoků bylo provedeno dle uzančních metod. *E. coli* a koliformní bakterie byly detegovány metodou Colilert®-18/Quanti-Tray® (ČSN EN ISO 9308-2, cit.²⁷), a proto jsou výsledky uváděny v jednotkách MPN ve 100 ml vody (MPN – nejpravděpodobnější počet, most probable number). Intestinální enterokoky byly stanoveny metodou membránové filtrace dle ČSN EN ISO 7899-2 a výsledky jsou uváděny v jednotkách KTJ ve 100 ml vody (KTJ – kolonie tvořící jednotky).

Vyhodnocení dat a statistická analýza

U všech sledovaných indikátorových organismů (*E. coli*, koliformní bakterie, intestinální enterokoky, somatické kolifágy) byly za účelem vyhodnocení získaných dat a jejich prezentace v logaritmickém měřítku nahrazeny zjištěné nulové počty hodnotou meze detekce příslušné metody (1 MPN ve 100 ml, 1 KTJ ve 100 ml nebo 1 PTJ v 1 ml). Prezentovaná data (původně zjištěné počty KTJ, MPN, PTJ v objemu vzorku) jsou vyjadřována v logaritmickém měřítku o základu 10 ($\log_{10}x$). Střední hodnoty sledovaných ukazatelů v jednotlivých odběrových profilech jsou uváděny formou geometrických průměrů a směrodatných odchylek, variabilita získaných dat je zároveň vyjádřena pomocí krabicových grafů. Snížení koncentrace (početního zastoupení) indikátorových organismů technologickou linkou zařízení je vyjádřeno procentuálně i rozdílem na logaritmické stupnici \log_{10} koncentrace organismů oproti nátoku na jednotku, tzn. odtoku z městské ČOV.

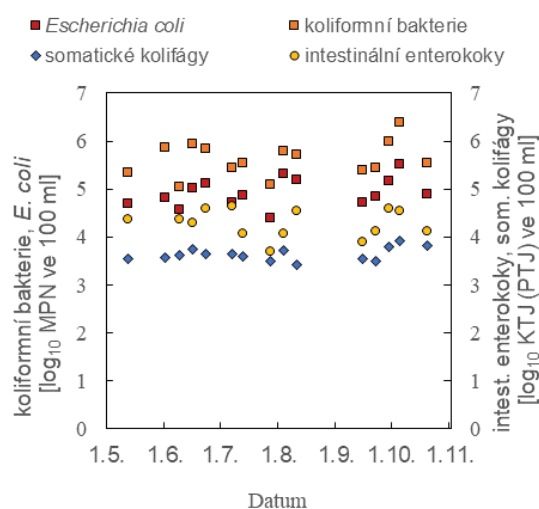
Pro posouzení vzájemného vztahu mezi sledovanými ukazateli (somatické kolifágy, koliformní bakterie, *E. coli*, intestinální enterokoky) byl zvolen Pearsonův korelační koeficient. Zároveň byl proveden výpočet p-hodnot, při-

čemž za významnou korelaci byla považována p-hodnota menší než 0,05.

Výsledky a diskuse

Mikrobiální kontaminace odtoku z ČOV

Mikrobiální znečištění vody v odtoku z vybrané městské mechanicko-biologické ČOV je ve sledovaném období (květen až říjen 2020) znázorněno na obr. 1. Somatické kolifágy stanovované v jednotkách PTJ v 1 ml vody byly pro snazší porovnání s bakteriálními indikátory fekálního znečištění v případě odtoku z ČOV vyjádřeny v jednotkách PTJ ve 100 ml vody. Po celé sledované období byly koncentrace všech indikátorových organismů poměrně stabilní a nedocházelo k jejich významnému kolísání. Zjištěné koncentrace se rovněž shodují s hodnotami uváděnými v jiných publikacích, ve kterých se koncentrace koliformních bakterií v nedezinfikovaném odtoku z ČOV pohybují přibližně v rozmezí 3,3–6,0 \log_{10} MPN ve 100 ml (cit.^{28–31}), *E. coli* 4,4–5,4 \log_{10} MPN ve 100 ml (cit.^{29,32,33}), intestinální enterokoky 3,8–5,9 \log_{10} KTJ ve 100 ml (cit.^{20,32,33}) a somatické kolifágy 2,3–3,9 \log_{10} PTJ ve 100 ml (cit.^{20,21,32}).



Obr. 1. Koncentrace bakteriálních indikátorů fekálního znečištění (*Escherichia coli*, koliformní bakterie, intestinální enterokoky) a somatických kolifágů v odtoku z městské ČOV za rok 2020. Pozn.: Koncentrace somatických kolifágů uváděné v jednotkách PTJ ve 100 ml vody byly získány převedením původně zjištěných hodnot v jednotkách PTJ v 1 ml vody. Barevná verze obrázku je dostupná na webových stránkách časopisu Chemické listy.

Korelace koncentrací somatických kolifágů s bakteriálními indikátory fekálního znečištění

Vzájemná korelace mezi sledovanými mikrobiologickými ukazateli (somatické kolifágy, *E. coli*, koliformní bakterie, intestinální enterokoky) byla posuzována v profilu odtoku z městské ČOV (vstup na jednotku) a je patrná z tab. I. Významný vztah byl dle očekávání zjištěn mezi koliformními bakteriemi a *E. coli* ($r = 0,89$), neboť bakterie *E. coli* je zástupcem koliformních bakterií, ale také mezi koliformními bakteriemi/*E. coli* a somatickými kolifágy. Somatické kolifágy vykazovaly s koliformními bakteriemi silnější korelaci ($r = 0,78$) než s bakteriemi *E. coli* ($r = 0,69$). Vysvětlením by mohl být fakt, že *E. coli* není jediným hostitelem těchto bakteriálních virů, ale mohou jimi být i další koliformní bakterie³⁴. Podobně silnou korelaci mezi somatickými kolifágy, koliformními bakteriemi a *E. coli* v surové i vyčištěné odpadní vodě uvádí také další studie²⁵. Nízká korelace byla zjištěna mezi intestinálními enterokoky a somatickými kolifágy ($r = 0,27$). To je v rozporu s výsledky ve studii²⁵, která mezi těmito ukazateli uvádí silnější vztah (0,558). Jednalo se však o hodnotu korelace vypočtenou nejen z vyčištěné odpadní vody, ale také ze surové odpadní vody, což by mohlo být důvodem rozdílných hodnot. Pro nízkou korelaci může hovořit skutečnost, že intestinální enterokoky jsou oproti ostatním FIB citlivější k vnějším vlivům prostředí a přežívají tak pouze krátkou dobu. Navíc nepatří mezi hostitelské buňky somatických kolifágů, neboť se ve srovnání s koliformními bakteriemi jedná o taxonomicky odlišnou skupinu.

Eliminace mikrobiálních indikátorů terciárním čištěním

Počty všech mikrobiologických ukazatelů včetně somatických kolifágů byly v průběhu terciárního čištění až na výjimky postupně snižovány, viz obr. 2. Somatické kolifágy byly oproti ostatním sledovaným mikrobiologickým ukazatelům zpravidla odstraňovány s nejnižší účinností, a to ve všech technologických stupních čištění. Účinnost jednotlivých technologických mezistupňů v odstranění mikrobiální kontaminace je patrná v tab. II.

Mikrokoagulace s minimální dávkou koagulačního činidla ($0,7 \text{ mg l}^{-1} \text{ Fe}$) odstranila pouze minimální množství sledovaných organismů. Neměla v podstatě žádný vliv na odstranění somatických kolifágů a intestinálních enterokoků (míra redukce v obou případech $0,0 \text{ log}_{10}$), zatímco koliformní bakterie a *E. coli* byly sníženy o $0,3 \text{ log}_{10}$ a $0,2 \text{ log}_{10}$. Důvodem rozdílných výsledků může být závislost účinnosti koagulace a flokulace na velikosti ve vodě přítomných mikroorganismů a jejich povrchovém náboji.

Písková filtrace s předřazenou mikrokoagulací snížila počty somatických kolifágů o $0,3 \text{ log}_{10}$, zatímco množství koliformních bakterií i *E. coli* bylo sníženo o $0,3 \text{ log}_{10}$ a množství intestinálních enterokoků o $0,5 \text{ log}_{10}$. Částečná redukce počtu somatických kolifágů, přestože se jedná o pískovou filtraci, může být vysvětlena jejich tendencí adsorbovat na pevné částice². Separovány mohou být také společně s hostitelskou buňkou po adsorpci na její povrch.

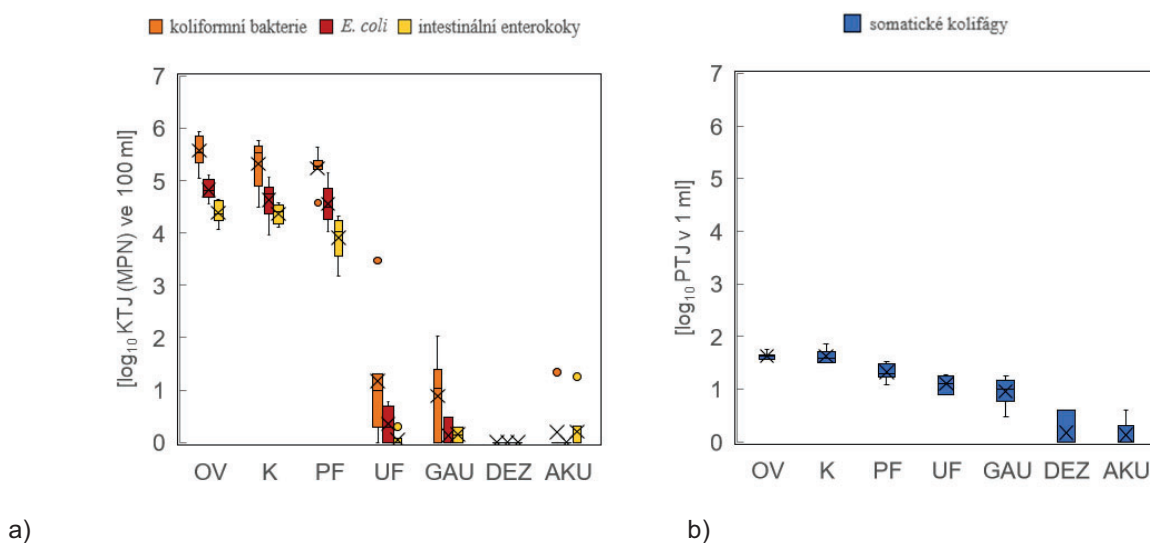
Významného odstranění všech mikrobiologických ukazatelů bylo dosaženo po použití ultrafiltrační membrány s velikostí pórů $0,08 \text{ } \mu\text{m}$, přičemž míra odstranění činila téměř 100 %. Množství koliformních bakterií, *E. coli* i intestinálních enterokoků bylo sníženo o $4,4 \text{ log}_{10}$, $4,5 \text{ log}_{10}$ a $4,4 \text{ log}_{10}$. Hlavním separačním mechanismem byla v tomto případě rozdílná velikost buněk a pórů membrány. Přesto je nutné podotknout, že vzorky permeátu byly ve více než 50 % případů testovány pozitivně na přítomnost všech bakteriálních ukazatelů a jejich počty se pohybovaly u *E. coli* i intestinálních enterokoků v rozmezí jednotek MPN ve 100 ml resp. KTJ ve 100 ml a u koliformních bakterií převážně v rozmezí jednotek až desítek MPN ve 100 ml (vzhledem k počátečním koncentracím se však jedná o zanedbatelné hodnoty a míra jejich odstranění membránou dosahuje téměř 100 %). Obdobná situace výskytu koliformních bakterií v permeátu byla popsána ve studii²¹, kde byla přisuzována vznikající vrstvě biofilmu na vnitřní straně membrány (permeátové straně). Oproti tomu množství somatických kolifágů bylo po stupni membránové ultrafiltrace sníženo o $0,5 \text{ log}_{10}$ s průměrnou účinností odstranění 69 %. Velikost somatických kolifágů je uváděna v rozmezí 30–100 nm (cit.³⁵), tedy převážně menší než rozměry pórů použité membrány. Nicméně kromě separace na základě rozdílných velikostí virových částic a pórů membrány hraje důležitou roli také zanášení tzv.

Tabulka I

Pearsonův korelační koeficient mezi sledovanými mikrobiologickými ukazateli

	<i>Escherichia coli</i>	Koliformní bakterie	Intestinální enterokoky	Somatické kolifágy
<i>Escherichia coli</i>	x	0,89	0,36	0,69
Koliformní bakterie	0,89	x	0,40	0,78
Intestinální enterokoky	0,36	0,40	x	0,27
Somatické kolifágy	0,69	0,78	0,27	x

Pozn.: Významná korelace ($p < 0,05$) je uvedena tučným písmem



Obr. 2. Koncentrace a) bakteriálních indikátorů fekálního znečištění a b) somatických kolifágů v odtoku z čistírny odpadních vod (OV) a v průběhu terciálního čištění po stupních koagulace (K), pískové filtrace (PF), ultrafiltrace (UF), sorpce na granulovaném aktivním uhlí (GAU), dezinfekce (DEZ) a akumulace (AKU). Pozn.: Úsečky na vertikálních čarách v jednotlivých krabicových grafech představují postupně shora maximum, horní kvartil (75 %), medián, spodní kvartil (25 %), minimum. Křížky symbolizují průměrné hodnoty a kolečka statisticky odlehle hodnoty. Barevná verze obrázku je dostupná na webových stránkách časopisu Chemické listy.

Tabulka II

Redukce množství mikrobiologických ukazatelů technologickou linkou terciálního dočištění odpadních vod (vyjádřené v \log_{10}) včetně průměrné účinnosti odstranění

Profil	Somatické kolifágy		<i>Escherichia coli</i>		Koliformní bakterie		Intestinální enterokoky	
	\log_{10}	%	\log_{10}	%	\log_{10}	%	\log_{10}	%
Koagulace	0,00 ± 0,13	9,9	0,21 ± 0,30	31	0,29 ± 0,50	29	0,03 ± 0,18	14
Písková filtrace	0,30 ± 0,14	47	0,27 ± 0,29	48	0,34 ± 0,15	51	0,48 ± 0,29	62
Ultrafiltrace	0,53 ± 0,13	69	4,47 ± 0,35	100	4,40 ± 1,09	100	4,34 ± 0,17	100
Sorpce GAU	0,67 ± 0,22	76	4,69 ± 0,32	100	4,69 ± 0,79	100	4,24 ± 0,27	100
Dezinfekce	1,46 ± 0,29	97	4,82 ± 0,18	100	5,57 ± 0,30	100	4,39 ± 0,19	100
Akumulace	1,50 ± 0,20	97	4,82 ± 0,18	100	5,38 ± 0,63	100	4,18 ± 0,52	100

Pozn.: nejedná se o vyjádření účinnosti samostatných technologických stupňů, ale účinnosti dosažené jejich postupným řazením za sebou v technologické lince

„fouling“ membrány a schopnost bakteriofágů adsorbovat na povrch pevných částic, včetně membrány^{36,37}.

Zařazením sorpce na GAU bylo množství somatických kolifágů sníženo o 0,7 \log_{10} . V případě bakteriálních ukazatelů (koliformní bakterie, *E. coli* a intestinální enterokoky) nedošlo k významným změnám a v porovnání s nátokem na GAU byly jejich koncentrace srovnatelné nebo mírně zvýšené. To může být vysvětleno adsorpcí organických látek na GAU, které mohou být následně využity těmito bakteriemi jako substrát pro případné sekundární pomnožování.

Na konci celého procesu terciálního čištění, tzn. po dezinfekci chlornanem sodným, byla koncentrace somatických kolifágů průměrně o 1,5 \log_{10} nižší oproti jejich koncentraci v nátoce na poloprovozní jednotku a bylo dosaženo průměrně 97% účinnosti odstranění. Koliformní bakterie, *E. coli* a intestinální enterokoky nebyly v žádném z odebraných vzorků po dezinfekci detegovány. Jejich počty byly celou technologickou linkou sníženy průměrně o 5,6 \log_{10} , 4,8 \log_{10} a 4,4 \log_{10} (viz tab. II). Během následné krátkodobé akumulace nebyly zaznamenány žádné významné změny v mikrobiální kvalitě vycištěné vody.

Přestože bakteriální ukazatele mohou být s využitím membránové ultrafiltrace v procesu terciárního čištění téměř kompletně eliminovány, je nezbytně nutné upravenou vodu vždy následně hygienicky zabezpečit. Důvodem je jak riziko sekundární kontaminace a tvorba biofilmů při delší době akumulace, tak fakt, že ultrafiltrační membrána není spolehlivou bariérou pro separaci virových částic. Přítomnost somatických kolifágů v permeátu po stupni ultrafiltrace indikuje riziko výskytu patogenních virů, které mohou v závislosti na výsledné aplikaci upravené vody bez hygienického zabezpečení způsobovat případné zdravotní komplikace.

Závěr

V rámci práce byla posouzena korelace množství somatických kolifágů s množstvím FIB v odtoku ze sekundárního stupně konvenční městské ČOV a zároveň bylo sledováno odstraňování těchto ukazatelů v průběhu jednotlivých technologických stupňů terciárního dočištění. Zjištěné koncentrace vybraných FIB a somatických kolifágů v odtoku ze sekundárního stupně ČOV byly po celé sledované období víceméně stabilní a shodovaly se s hodnotami uváděnými v dalších odborných studiích. Významná korelace byla nalezena mezi somatickými kolifágy, koliformními bakteriemi a *E. coli*. V průběhu terciárního čištění byly efektivněji odstraňovány FIB oproti somatickým kolifágům, přičemž významný rozdíl byl zaznamenán po technologickém stupni membránové ultrafiltrace, během které byly FIB téměř kompletně eliminovány na rozdíl od somatických kolifágů. Membránová ultrafiltrace tedy nemusí vždy být úplnou bariérou pro virové patogeny, velmi závisí na velikosti pórů dané membrány. Finálním krokem by mělo být vždy hygienické zabezpečení vody a současně monitorování její kvality pomocí mikrobiologických ukazatelů včetně somatických kolifágů, které byly navrženy jako vhodné indikátory enterických virů. Vzhledem k tomu, že jsou somatické kolifágy ve své podstatě jednoduše detegovatelné kultivační metodou v poměrně krátkém časovém intervalu (do 18 h), je možné je používat jako biosenzorové organismy a zařadit je do rizikové analýzy provozované technologické linky. Pokud somatické kolifágy ve větších počtech procházejí skrze technologickou linku pro recyklaci vody, je možné předpokládat, že mohou procházet také další virové částice a tudíž nemusí být recyklovaná voda použitelná pro některé způsoby opětovného využití. Tato studie poukazuje na význam zařazení somatických kolifágů do monitoringu recyklovaných vod i z jiného hlediska, tím je dostatečné technologické uspořádání linky terciárního čištění neboli recyklace umožňující opětovné využití vyčištěných odpadních vod.

Seznam zkratek

ČOV	čistírna odpadních vod
FIB	bakteriální indikátory fekálního znečištění, (faecal indicator bacteria)
GAU	granulované aktivní uhlí
KTJ	kolonie tvořící jednotky
MPN	nejpravděpodobnější počet, (most probable number)
PTJ	plaky tvořící jednotky

Publikace vznikla v rámci projektu TAČR TH03030080 „Recyklace odpadních vod pro využití ve vodním hospodářství měst budoucnosti“.

LITERATURA

- Ashbolt N. J., Grabow W. O., Snozzi M., v knize: *Water quality: Guidelines, standards and health*, kap. 13, str. 424. World Health Organization, IWA Publishing, Cornwall 2001.
- Jofre J., Lucena F., Blanch A. R.: *Water 13*, 1110 (2021).
- Guidelines for Drinking-Water Quality*, 4. vyd. World Health Organization, Geneva, Švýcarsko 2011.
- Vyhláška č. 252/2004 Sb., vyhláška, kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody. Sbírnka zákonů 2004, částka 82.
- Chacón L., Barrantes K., Santamaría-Ulloa C., Solano M., Reyes L., Taylor L., Valiente C., Symonds E. M., Achí R.: *Appl. Environ. Microbiol.* 86, e00616 (2020).
- Varbanov M., Bertrand I., Philippot S., Retourney C., Gardette M., Hartard C., Jeulin H., Duval R., Loret J.-F., Schvoerer E.: *Sci. Total Environ.* 797, 149112 (2021).
- Montazeri N., Goettert D., Achberger E. C., Johnson C. N., Prinyawiwatkul W., Janes M. E.: *Appl. Environ. Microbiol.* 81, 6436 (2015).
- Svraka S., Duizer E., Vennema H., de Bruin E., van der Veer B., Dorresteijn B., Koopmans M.: *J. Clin. Microbiol.* 45, 1389 (2007).
- Laine J., Huovinen E., Virtanen M., Snellman M., Lumio J., Ruutu P., Kujansuu E., Vuento R., Pitkänen T., Miettinen I.: *Epidemiol. Infect.* 139, 1105 (2011).
- Werber D., Laušević D., Mugoša B., Vratnica Z., Ivanović-Nikolić L., Žižić L., Alexandre-Bird A., Fiore L., Ruggeri F., Di Bartolo I.: *Epidemiol. Infect.* 137, 1713 (2009).
- Di Bartolo I., Pavoni E., Tofani S., Consoli M., Galuppini E., Losio M. N., Ruggeri F. M., Varisco G.: *New Microbiol.* 38, 109 (2015).
- Mellou K., Katsioulis A., Potamiti-Komi M., Pournaras S., Kyritsi M., Katsiaflaka A., Kallimani A., Kokkinos P., Petinaki E., Sideroglou T.: *Epidemiol. Infect.* 142, 40 (2014).

13. Lamy M.-C., Sanseverino I., Niegowska M., Lettieri T.: *Microbiological Parameters under the Drinking Water Directive*, 2020.
14. *Guidelines for Canadian drinking water. Quality guideline technical document: Copper*, Health Canada, Ottawa, Ontario 2019.
15. McMinn B. R., Ashbolt N. J., Korajkic A.: *Let. Appl. Microbiol.* 65, 11 (2017).
16. Jofre J.: *J. Appl. Microbiol.* 106, 1059 (2009).
17. Skrabber S., Gassilloud B., Gantzer C.: *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 3644 (2004).
18. Costán-Longares A., Montemayor M., Payan A., Mendez J., Jofre J., Mujeriego R., Lucena F.: *Water Res.* 42, 4439 (2008).
19. De Sanctis M., Del Moro G., Chimienti S., Ritelli P., Levantesi C., Di Iaconi C.: *Sci. Total Environ.* 580, 17 (2017).
20. De Luca G., Sacchetti R., Leoni E., Zanetti F.: *Bioresour. Technol.* 129, 526 (2013).
21. Zhang K., Farahbakhsh K.: *Water Res.* 41, 2816 (2007).
22. Yahya M., Hmaied F., Jebri S., Jofre J., Hamdi M.: *J. Appl. Microbiol.* 118, 1217 (2015).
23. Akiba M., Senba H., Otagiri H., Prabhasankar V. P., Taniyasu S., Yamashita N., Lee K., Yamamoto T., Tsutsui T., Joshua D. I.: *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 115, 203 (2015).
24. Rose J. B.: *Reduction of pathogens, indicator bacteria, and alternative indicators by wastewater treatment and reclamation processes*, IWA Publishing, 2005.
25. Mandilara G. D., Smeti E. M., Mavridou A. T., Lambiri M. P., Vatopoulos A. C., Rigas F. P.: *FEMS Microbiol. Lett.* 263, 119 (2006).
26. ČSN EN ISO 10705-2: *Jakost vod – Průkaz přítomnosti a kvantitativní stanovení bakteriofágů – Část 2: Kvantitativní stanovení somatických kolifágů*. (2002)
27. ČSN EN ISO 9308-2 (757836): *Kvalita vod – Stanovení Escherichia coli a koliformních bakterií – Část 2: Metoda nejpravděpodobnějšího počtu*. (2014)
28. Gamage S., Gerrity D., Pisarenko A. N., Wert E. C., Snyder S. A.: *Ozone: Sci. Eng.* 35, 501 (2013).
29. Guimarães J. R., Guadagnini R. A., Franco R. M. B., dos Santos L. U.: *J. Adv. Oxid. Technol.* 19, 93 (2016).
30. Nasuhoglu D., Isazadeh S., Westlund P., Neamatallah S., Yargeau V.: *Chem. Eng. J.* 346, 466 (2018).
31. Al-Jassim N., Ansari M. I., Harb M., Hong P.-Y.: *Water Res.* 73, 277 (2015).
32. Sauter D., Stange C., Schumacher V., Tiehm A., Gnirss R., Wintgens T.: *Environ. Sci.: Water Res. Technol.* (2021).
33. Moulin L., Richard F., Stefania S., Goulet M., Gosselin S., Gonçalves A., Rocher V., Paffoni C., Dumètre A.: *Water Res.* 44, 5222 (2010).
34. Leclerc H., Edberg S., Pierzo V., Delattre J.: *J. Appl. Microbiol.* 88, 5 (2000).
35. Purnell S., Ebdon J., Buck A., Tupper M., Taylor H.: *Water Res.* 73, 109 (2015).
36. Zanetti F., De Luca G., Sacchetti R.: *Bioresour. Technol.* 101, 3768 (2010).
37. Farahbakhsh K., Smith D.: *Water Res.* 38, 585 (2004).

J. Zuzáková^{a,b}, D. Janák^a, E. Vobecká^{a,b}, and J. Řihová Ambrožová^a (^aDepartment of Water Technology and Environmental Engineering, Faculty of Environmental Technology, University of Chemistry and Technology Prague, ^bPVK, a.s., Prague, Czech Republic): **Use of Somatic Coliphages in Biosensing of Hygiene Safety of Recycled Wastewater**

Outflows from secondary stages of conventional mechanical-biological wastewater treatment plants (WWTPs) still contain significant concentrations of faecal pollution indicators suggesting the potential presence of pathogenic organisms. The decrease in the concentration of somatic coliphages and bacterial indicators of faecal pollution during the technological stages (coagulation, sand filtration, membrane ultrafiltration, sorption on granular activated carbon, disinfection, accumulation) of a semi-operational plant designed for multi-stage tertiary treatment or rather recycling of treated wastewater was monitored and discussed. During the tertiary treatment, faecal bacteria indicators were better removed than somatic coliphages, hence the inclusion of somatic indicators among faecal pollution indicators in water quality control for reuse is entirely appropriate. Subsequent tertiary treatment, including disinfection, is essential for safe reuse of treated water.

Keywords: somatic coliphages, microbial contamination, wastewater, recycling

Acknowledgements

This work was supported by grant number TH03030080 entitled „The use of treated wastewater in water management of cities of the future“ from the Technology Agency of the Czech Republic (TACR).

STRATEGICKÁ VÝZKUMNÁ AGENDA SUSCHEM CZ

MARTIN ŠILHAN^{a,b}, LADISLAV NOVÁK^a a ANTONÍN MLČOCH^a

^a Česká technologická platforma pro udržitelnou chemii (SUSCHEM CZ), Rubeška 393/7, 190 00 Praha 9,

^b Centrum výzkumu Řež s.r.o., Hlavní 130, 250 68 Husinec-Řež

martin.silhan@cvrez.cz

Došlo 14.12.22, přijato 2.1.23.

Článek informuje o strategické výzkumné agendě České technologické platformy pro udržitelnou chemii zejména v kontextu současné a nastupující chemické legislativy a očekávaných restrikcí. Jsou diskutovány vybrané investice do chemického průmyslu.

Klíčová slova: chemický průmysl, výzkum, inovace, SVA – strategická výzkumná agenda

Obsah

1. Úvod
2. Strategická výzkumná agenda SUSCHEM CZ
3. Charakterizace vědecko-výzkumné základny českého chemického průmyslu
4. Horizontální témata
5. Závěr

1. Úvod

Česká technologická platforma pro udržitelnou chemii (SUSCHEM CZ) publikovala dokument Aktualizovaná Cestovní mapa průmyslové modernizace a zavádění pokročilých technologií v chemickém průmyslu ČR (CM)¹. Uvedenou CM chápeme jako určitý jízdní řád a časový harmonogram naznačující, kdy se budou v ČR realizovat zásadní transformační změny jak v technologiích, tak ve firemních strategiích bez ohledu na to, zda formou realizace vlastních výsledků výzkumu v ČR nebo nákupem licence. Soustředili jsme se především na rozhodující strategické projekty, které v nových podmínkách umožní splnění radikálních požadavků Evropské zelené dohody (Green New Deal – GND)² a jiné silně restriktivní Evropské legislativy. Jako příklad strategických projektů lze uvést výrobu vodíku, biomethanu, restrukturalizaci rafinérsko-petrochemického komplexu, modulární jaderné reaktory, chemickou recyklaci odpadů, využití CO₂ jako chemické suroviny nebo elektrifikaci chemického průmyslu. Návrhy projektů jsou doplněny o posouzení dopadu na uhlíkovou stopu, dále jsme posuzovali úroveň technologické připravenosti a předpokládanou dobu průmyslové realizace. Cílem aktualizované CM bylo zajistit udržitelnost českého chemického průmyslu a zaměstnanosti v podmínkách ob-

novy hospodářství po ekonomické krizi v důsledku pandemie Covid-19 a války na Ukrajině, nutnosti realizovat opatření vyplývající z megatrendů, zejména GND a dalších opatření EU. Důležitým výstupem aktualizované CM byly očekávané přínosy, které se staly základem pro dopracování souběžně zpracovávané Strategické výzkumné agendy (SVA).

2. Strategická výzkumná agenda SUSCHEM CZ

Cílem SVA je navrhnout průmyslově relevantní výzkumná témata včetně námětů pro mezinárodní spolupráci, zajišťující naplnění cílů a technologických výzev. Vycházíme z analýzy vývoje ve světě a EU, z možností napojení tuzemského výzkumu do mezinárodní spolupráce. Návrhy vývojových projektů s využitím tuzemské výzkumné a vývojové (VaV) základny jsou konfrontovány s vývojem dané technologie ve světě a EU, je odhadnuta doba do komerční realizace, případně uvedeno očekávané snížení uhlíkové stopy. Výzkumníci nabízejí celou řadu různých řešení, otázkou je realita zavedení do průmyslové praxe, potřebný čas a výdaje. V ČR existuje mnoho vynikajících výzkumných organizací, a ještě více dynamických a inovativních firem. Plné využití jejich potenciálu vyžaduje významně posílit financování výzkumu, vývoje a inovací z 2 % HDP v roce 2021 na 3 % HDP v roce 2030.

Zabýváme se převážně náměty pro výzkumná řešení nad rámec současné techniky. Tedy náměty, které jsou v současné době řešeny na úrovni základního výzkumu a realizaci výsledků lze očekávat až kolem roku 2030 a později. Zdrojem pro zpracování SVA byly strategie významných firem pro transformaci na bezemisní ekonomiku a digitalizaci (např. ORLEN Unipetrol, SPOLCHEMIE,

ČEZ, BASF, ŠKODA AUTO). Celý text SVA je volně dostupný na www.suschem.cz.

Na základě identifikace globálních trendů techniky a budoucích potřeb ekonomiky s ohledem na potenciál českých vědeckovýzkumné základny a inovační potenciál českých firem byly výtýpovány základní strategické oblasti, pro které existuje nebo je vytvářen v ČR dostatečný vědeckotechnický potenciál, záměry jsou realizovatelné a mohou významně přispět k řešení potřeb české společnosti a naplňování cílů Evropské zelené dohody a navazujících evropských strategií a cílů formulovaných v CM.

Radikální požadavky GND, ale také rostoucí deficit řady kritických surovin, dopady pandemie Covid-19, dopady války na Ukrajině, zadlužení ČR a další problémy společnosti vyžadují zásadní posun v oblasti výzkumu a inovací. Rostoucí boj o zdroje výrazně zvyšuje mezinárodní napětí. Málokdy v historii vytvořila Evropská unie takové množství vzájemně propojené legislativy jako v případě klimatického „balíčku“ Fit for 55 (cit.³), který je souborem návrhů na revizi a aktualizaci právních předpisů EU a na zavedení nových iniciativ a který má zajistit, aby byla politika EU v souladu s klimatickými cíli dohodnutými Evropskou radou a Evropským parlamentem, nebo iniciativy REPowerEU⁴, což je plán EU pro cenově dostupnější, bezpečnější a udržitelnější energie. Dosavadní programy SVA bylo třeba aktualizovat s ohledem na nové, často velmi ambiciózní požadavky GND, Strategie udržitelnosti chemikálií a dalších iniciativ EU. Základním požadavkem úspěšné realizace v SVA popsanych inovací je zajištění dostatečných zdrojů levné obnovitelné energie. Schopnost ČR ovlivnit vývoj globálních megatrendů je omezená, dopad globálních megatrendů na budoucí vývoj ČR je však mimořádně významný. Hlavními opatřeními pro dosažení cílových parametrů Fit for 55 je dekarbonizace, rozšíření využívání obnovitelných zdrojů energie, zelený vodík, využívání CO₂ jako suroviny, využití biomasy, elektrifikace chemického průmyslu, recyklace, ale také úspory spotřeby energií a surovin, hlavně kriticky ohrožených, a vody. Tato opatření si však vyžadují zásadní změny nejenom v chemickém průmyslu, ale zejména v mobilitě, hutnictví, zemědělství, stavebnictví, hornictví a v dalších odvětvích. Řada těchto změn již postupně nastává (např. programy postupného útlumu těžby uhlí, rozvoj elektromobility, omezování skládkování odpadů, zvyšování podílu bioplynu nebo vodík v plynu, nové emisní limity pro motorová vozidla a další). Proti tomu však velmi negativně působí výrazné zdražování energií, které významně dopadá nejenom na životní úroveň obyvatel, ale i na řadu průmyslových odvětví, včetně chemického průmyslu a ohrožuje ekonomickou stabilitu a konkurenceschopnost českého průmyslu.

Investice do efektivního využití energií, recyklaci a lepší hospodaření s vodou jsou mezi českými firmami klíčové oblasti. Podle vedoucích tuzemských firem představuje legislativa pro udržitelnost podnikání jednak nebezpečnou zátěž, na druhé straně také příležitost pro rozšíření zákaznické základny. Dosavadní metody hodnocení efektivnosti investic založené na klasické účetní závěrce

a finanční analýze se v nejbližších letech výrazně změní, protože do hry vstupují tzv. ESG kritéria (Environmental, Social, and Governance). Ta u firem nehodnotí jen tržby a zisky, ale také udržitelnost jejich obchodního modelu v kontextu globálních klimatických i společenských změn. K novým metodám patří tzv. EU Taxonomie⁵, což je evropský klasifikační systém, který má za cíl podpořit soukromé investice do udržitelných technologií. EU uvažuje o zavedení zeleného auditu od roku 2023. To je vlastně zavedení tzv. uhlíkového účetnictví, kdy se do výpočtu ziskovosti zahrnuje i výpočet ušetřené uhlíkové stopy. Je otázkou, zda takto hluboké zkresení tržních principů budou ochotni investoři a především spotřebitelé akceptovat.

Chemické látky jsou základem strategických hodnotových řetězců Evropy, a proto zamýšlené změny politiky, které přijdou spolu s ekologickou a digitální transformací, budou mít „dominantní efekt“ ve všech hodnotových řetězcích závislých na chemických látkách. Zajištění civilizační odolnosti a další rozvoj strategických produktových řetězců v Evropě závisí na inovativním a konkurenceschopném chemickém průmyslu a právních předpisech, které to umožňují, jakož i na posílení partnerství včetně nových modelů spolupráce mezi chemickým průmyslem a ostatními průmyslovými odvětvími. Na druhé straně je chemický průmysl ze své podstaty energeticky náročný a pod silným konkurenčním tlakem. Čelí výzvám, mezi něž patří zvýšená mezinárodní konkurence, rostoucí ceny energií a vstupních surovin, což ještě akcelerují dopady války na Ukrajině. Roste tlak na zvýšení účinného využívání zdrojů (včetně vody) a na recyklaci. Podniky řeší, jak se vyrovnat s cíli nulového emisního znečištění a s bezprecedentním počtem nových předpisů v rámci GND a Strategie pro udržitelnost chemických látek⁶. Trvalé investice do výzkumu a inovací budou hrát klíčovou úlohu při řešení těchto výzev, ale je zapotřebí stanovení priorit a posloupnost opatření, aby se zajistilo zachování globální konkurenceschopnosti. U návrhů rozhodujících strategických investic byla posuzována i příležitost vytváření nových pracovních míst.

Některé chemické látky, které jsou nezbytné pro strategické hodnotové řetězce, se již v EU nevyrobí, 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 potenciálu. Společný nákup strategických surovin pro EU je správná cesta, pokud se však zabrání zvyšování cen díky různým spekulantům, které nastalo u cen elektřiny nebo emisních povolenek.

Potenciál tuzemských firem a výzkumu lze ještě rozšířit zaměřením na budoucí technologické trendy. Právě obory jako umělá inteligence, nanotechnologie nebo kosmologie v budoucnu s nejvyšší pravděpodobností ovlivní ekonomické postavení té které země. Cílem naší strategie je zaměřit podporu směrem k výše uvedeným klíčovým trendům a vytvořit vzájemně provázané schéma financování.

Dekarbonizace chemického průmyslu je velmi komplikovaná, neboť se jedná o širokou škálu specifických

procesů s různými vstupními a výstupními surovinami. Situace je specifická také proto, že odvětví řeší kromě snižování emisí skleníkových plynů i mnoho dalších výzev, jako je např. Strategie EU pro udržitelnost v oblasti chemických látek, která omezuje produkci mnoha toxických chemických látek a bude nutné hledat alternativy k těmto produktům. Odvětví bude v budoucích letech rovněž silně ovlivněno postupným omezováním prodeje spalovacích automobilů v ČR, neboť současná chemická výroba je v mnoha případech navázána na zpracování ropy.

Investice do efektivního využití energie, recyklace a využití vody patří v českých firmách mezi klíčové oblasti řešení dopadů GND. Udržitelnost je podle představitelů tuzemských firem zčásti zátěž, ale také příležitost pro rozšíření zákaznické základny. Jednou z firem, která má zpracovanou strategii pro transformaci na bezemisní ekonomiku, je společnost ČEZ, a. s., která ve Vizi 2030 (cit.⁷) rozpracovala detailní projekt, jak proměnit vnitřní procesy i proměnit portfolio služeb. V segmentu Environmental plánují výstavbu obnovitelných zdrojů a připravují snížit podíl energie z uhlí. V roce 2019 to bylo 39 %, v roce 2025 to bude 25 % a v roce 2030 by to mělo být 12,5 %. Další strategie transformace podniků skupiny ORLEN Unipetrol⁸ plánuje produkci části petrochemie (15 %) z recyklovaných odpadů. Ve strategii BASF (cit.⁹) je uvedeno, že do roku 2030 sníží emise CO₂ o 25 % proti roku 2018 a budou usilovat o klimatickou neutralitu do roku 2050. Do roku 2025 chtějí zpracovat 250 kt recyklovaných surovin a surovin založených na odpadech. Do roku 2030 chtějí dosáhnout tržeb 17 miliard EUR z cirkulárního hospodářství. SPOLCHEMIE uvažuje o snížení uhlíkové stopy o 40 % do roku 2030, chtějí také snižovat znečištění – do roku 2030 mají cíl snížit specifickou produkci odpadu o 20 % a snížit specifické znečištění odpadních vod o 15 %.

3. Charakterizace vědecko-výzkumné základny českého chemického průmyslu

Výzkumné aktivity v ČR pokrývají široké spektrum směrů a v určitém rozsahu pokrývají všechny klíčové znalostní domény, resp. klíčové technologie – materiálového výzkumu, nanotechnologií, mikro a nanoelektroniky, fotoniky, pokročilých výrobních technologií a průmyslových biotechnologií. Ve většině znalostních domén disponuje ČR kvalitní výzkumnou základnou, která je schopná produkovat mezinárodně atraktivní výsledky a být kvalitním partnerem aplikační sféře při identifikaci nových aplikačních směrů a technologických řešení. Potřeby podnikatelské a výzkumné sféry se ne vždy potkávají, což se odráží v doposud stále nízké míře spolupráce těchto dvou sfér a nízké úrovni realizace výsledků výzkumu v průmyslu. V mezinárodním srovnání však publikační a patentové výstupy naznačují tři znalostní domény s nadprůměrnými parametry – jsou to fotonika, pokročilé materiály, a v menší míře nanotechnologie.

Do silných kategorií patří především výzkumné obory jako přístrojová technika (přístroje a přístrojová technika a mikroskopie), fyzika a materiálové vědy a energetika (zejména jaderná fyzika, jaderné vědy a technologie), některé podobory chemie a chemického inženýrství (spektroskopie, elektrochemie, textilní materiály, aplikovaná chemie), počítačové vědy (počítačové vědy a softwarové inženýrství), obory elektrického inženýrství a telekomunikací (automatizace a kontrolní systémy, telekomunikace), strojírenské obory (strojírenství a letecké strojírenství, všeobecné strojírenství) a biomedicínské obory (medicinální chemie, toxikologie, lékařské laboratorní technologie). V těchto oborech existují v ČR jednak silné výzkumné týmy, jednak existují potenciálně komplementární firmy v hospodářských odvětvích, která vykazují pozitivní dynamiku v exportu a investicích do VaV a lze u nich předpokládat zájem o využití výsledků výzkumných organizací.

Dosavadní výzkumná specializace byla v nedávném období ovlivněna poměrně masivními investicemi do veřejného výzkumu díky využití strukturálních fondů EU, a to především z Operačního programu Výzkum a vývoj pro inovace (OP VaVpI). Tato VaV centra se měla stát klíčovými stavebními bloky výzkumné specializace ČR, ale následně bylo třeba řešit jejich financování. Bude nezbytné využít v maximální míře jejich znalostního potenciálu pro řešení společenských výzev, i pro řešení výzkumných problémů definovaných ve spolupráci s aplikační sférou. Díky těmto investicím vzniklo v ČR celkem 8 center excelence a 40 regionálních VaV center, která představují značné posílení kritické masy ve vybraných oborech. Na VaV centra je také navázána podstatná část investičních nákladů české účasti v 11 projektech celoevropských výzkumných infrastruktur. MŠMT vydalo v roce 2019 aktualizaci Cestovní mapy velkých výzkumných infrastruktur ČR (cit.¹⁰), která představuje zapojení vědecké komunity do jednotlivých výzev a příležitostí v oblasti výzkumných infrastruktur. Dokument zahrnuje celkem 48 velkých výzkumných infrastruktur. Na provoz výzkumných infrastruktur ČR v roce 2020 bylo čerpáno ze státního rozpočtu 1,9 mld. Kč. Z hlediska spolupráce s podnikatelskou sférou jsou dlouhodobě dobré zkušenosti s VŠCHT Praha včetně Technoparku Kralupy a nového výzkumného centra CirkTech, které se bude zabývat výzkumem pokročilých mechanických a chemických procesů pro cirkulární ekonomiku. Významnou oblastí je rozvoj výzkumné základny v podnikatelské sféře. Z podnikatelské sféry je možno se zmínit o:

- ORLEN Unipetrol výzkumně vzdělávací centrum, a.s. Litvínov, Ústí nad Labem,
- SYNPO, a.s. Pardubice,
- Výzkumný ústav organických syntéz a.s. Rybitví.

SPOLCHEMIE provádí výzkum a vývoj ve třech výzkumných centrech, kde zaměstnává 150 odborníků. Významnou částí české základny VaV jsou výzkumná a vývojová pracoviště ve výrobních podnicích, která řeší zejména otázky aplikovaného výzkumu, zlepšování kvali-

ty výrobků, modernizace výrobní základny, přípravy inovačních investic, ochrany životního prostředí, úspor energií a další praktické otázky. Jako příklad lze uvést BorsodChem MCHZ, Precheza, Synthomer, Bochemie a řadu dalších.

Jako příklady úspěšných průmyslových realizací lze uvést zavedení výroby:

- dicyklopentadienu v ORLEN Unipetrol Litvínov využitím vedlejších produktů ethylenové jednotky,
- adiabatické nitrace v Borsodchem MCHZ Ostrava,
- intenzifikace výroby TiO₂ a nano-TiO₂ v Precheza a.s. Přerov.

Nedílnou součástí struktury VaV v ČR jsou četné technologické platformy, s řadou z nich SUSCHEM CZ aktivně dlouhodobě spolupracuje. Díky zastoupení firemní sféry, výzkumných organizací i veřejného sektoru je možné zpřesnit a prioritizovat aplikační témata inteligentní specializace a další výzkumná témata.

4. Horizontální témata

Dosažení klimatické neutrality, cirkulace, zdraví prospěšných potravinových systémů a udržitelnosti v zemědělství, dopravě, stavebnictví, balení, elektronických zařízeních, v oboru tepelných izolací a také dokončení přechodu na obnovitelné zdroje energie patří k největším výzvám, kterým dnes lidstvo čelí. Protože většina klíčových surovin, které evropský chemický průmysl potřebuje, se vyrábí mimo Evropu, zažívá evropský průmysl rychle rostoucí globální konkurenci při zajišťování přístupu ke zdrojům. Pandemie Covid-19 a zejména ruská agrese na Ukrajině zasáhla evropské hodnotové řetězce a ukázala jejich křehkost a slabiny. Zdůraznila závislost Evropy na jiných regionech a zdůraznila naléhavou potřebu urychlit transformaci a řešit zranitelnost našich hodnotových řetězců.

Jedním z nejdůležitějších nástrojů pro potřebnou transformaci je vývoj pokročilých materiálů a pokročilých technologií. Nejde jen o to, že některé dnes používané materiály jsou již na svém technickém maximu (např. křemík pro mikroelektroniku) nebo k jejich výrobě je potřeba řady vzácných surovin. Naopak, vědci postupným zvládnutím manipulace s atomy jsou schopni připravit zcela nové materiály. Digitalizace (např. mikroelektronika), energetické technologie a technologie mobility se budou stále více rozšiřovat, což bude vyžadovat kratší a agilnější vývojové cykly. To bude vyžadovat intenzivní úsilí ve vývoji pokročilých materiálů a nové moderní přístupy ke snížení nákladů na uvedení na trh a na snížení doby uvedení na trh. To vyžaduje rozšířit mezioborovou, a hlavně mezinárodní spolupráci a spojit dosud roztříštěné síly.

Navzdory tomu, že chemický průmysl ČR charakterizuje řada známých velkých společností, většinu chemického odvětví tvoří malé a střední podniky (MSP). Ty se často vyznačují větší odvahou k inovacím jak v oblasti pokročilých materiálů, tak v nových technologiích. MSP čelí společným výzvám, jsou obzvláště vystaveny dvojí transformaci, vysokým cenám energií materiálů, rozkolísaným

dodávkám, drahému financování. Mají problém získat kvalitní pracovní sílu a čelí tlakům zaměstnanců na zvyšování platů. Tohle všechno dopadá na MSP, a ještě dopadat bude. Často jsou závislé na jednotlivých chemických produktech a omezených portfoliích. Přístup k finančním prostředkům EU a ČR na inovace je pro MSP také složitější, a to z administrativních důvodů a personálních důvodů. Přítom MSP se podílejí na hrubém domácím produktu ze 40 %. MSP mají obvykle přístup k méně příznivým výpůjčním podmínkám než větší průmyslová odvětví a jsou 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 obtížné a pokyny pro taxonomii složité. Lepší pomoc místních a regionálních orgánů by rovněž mohla umožnit vyšší míru úspěšnosti přístupu MSP k veřejnému financování.

EU vytváří nové paradigma – Safe-and-Sustainable-by-Design (cit. ¹⁰), v jehož rámci bude důležité zajistit, aby byl přístup navržen tak, aby umožnil většině průmyslu úspěšně zvládnout tento přechod a nadále dodávat produkty. Bezpečnost produktu musí být potvrzena v rané fázi vývoje produktu. Na základě databáze REACH (Registration, Evaluation, Authorisation of Chemicals) a dalších nástrojů existuje příležitost vyvinout nástroje prediktivní toxikologie pro urychlení testování chemické bezpečnosti při minimalizaci testování na zvířatech a pro podporu přechodu na méně nebezpečné chemické látky tam, kde je to technicky a ekonomicky možné, zejména s ohledem na zvýšený oběh chemických látek a potřebu snížit spotřebu energie, surovin a vody. Samotný zákaz nebo omezení používání chemikálií na základě jejich nebezpečných vlastností nebere v úvahu úplný obraz. Může to být dokonce kontraproduktivní vůči cílům udržitelnosti. Namísto toho musí posouzení udržitelnosti produktu zohlednit celý životní cyklus a v maximální možné míře zahrnovat cirkulaci (včetně trvanlivosti), účinnost zdrojů, spotřebu energie, vody a půdy, příspěvek ke snížení emisí skleníkových plynů a další hlavní společenské potřeby, kromě informací o nebezpečnosti, použití a expozici. Různé hodnotové řetězce mohou vyžadovat různá kritéria. Toto hodnocení by mělo vycházet z metodik hodnocení udržitelnosti produktů, které již některé evropské chemické společnosti zavedly. Kromě funkčních požadavků a bezpečnosti by při rozhodování o náhradě mělo být klíčovým prvkem jakéhokoli alternativního hodnocení posouzení udržitelnosti. Kromě snížení celkové ekologické stopy by tato strategie měla přispět k posílení bezpečné recyklace a opětovného použití materiálů, aby se udržely v oběhovém hospodářství, a to řešením „starších látek“, zkoumáním inovativních digitálních řešení a norem pro sledování těchto látek podél hodnotových řetězců a umožnit tak výrobu vysoce kvalitních recyklovaných materiálů. Kromě toho musí chemická strategie pro udržitelnost jít ruku v ruce s iniciativou pro udržitelné produkty.

EU klade značný důraz na „nebezpečné“ látky bez náležitého zvážení použití a expozice. Například vysoce výkonné a odolné materiály, jako jsou materiály potřebné

pro pobřežní větrné turbíny, často spoléhají na perzistentní chemikálie. Důležité je, aby takové chemikálie nebyly emitovány na úroveň, která by nyní nebo v budoucnu způsobovala škody, nerozkládaly se a mohly být na konci své životnosti recyklovány. První prioritou budoucí chemické strategie pro udržitelnost by proto měla být práce na potřebách zlepšení identifikace v těchto případech a kontrolách způsobilosti: zefektivnění tam, kde je to možné, za účelem dosažení větší konzistence a odstranění duplicit, řešení některých problémů s implementací s cílem konsolidovat stávající regulační základ, zejména legislativu REACH¹ a zintenzivnění vymáhání, zejména u dovozu, spolu se zajištěním vymahatelnosti regulačních opatření.

Právní předpisy o chemických látkách musí podporovat a umožňovat přechod k oběhovému hospodářství a měly by odrážet různé způsoby recyklace. Aby se umožnila výroba vysoce kvalitních recyklovaných materiálů, jsou zapotřebí řešení snižující obavy týkající se nebezpečných látek, které by mohly být překážkou mechanické recyklace. Recyklátoři by měli mít dostatek informací, aby jejich pracovníci mohli bezpečně fungovat. Je třeba podporovat jednotný trh s odpady a různé předpisy musí podporovat rychlé rozšiřování trhů s druhotnými surovinami prostřednictvím chemické recyklace.

Při vývoji nové látky čelí chemický průmysl velké regulační nejistotě ohledně možného zákazu nebo omezení. Toto odvětví vyžaduje vysoké kapitálové výdaje na počáteční investice a často zvýšené investiční náklady na úpravu svých operací a výrobních procesů. V mnoha případech vyžaduje dovybavení velkých zařízení, dlouhodobé plánování 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 Komise po konzultaci se zúčastněnými stranami v současné době vypracovává strategický plán výzkumu a inovací v oblasti chemických látek a materiálů. Navrhujeme přijmout rámec EU pro regulační systém, který by pomohl otestovat potenciální průlomové technologie a zajistil, že bezpečné a udržitelné chemické látky a materiály budou mít výhodu na trzích. Nedostatek údajů, nejistota regulace a vysoké kapitálové výdaje, kterým čelí průmysl, zvyšují riziko pro inovativní společnosti v chemickém odvětví. Bezpečná a předvídatelná návratnost investic by zvýšila investice průmyslu do inovativních produktů a podpořila trh s bezpečnými a udržitelnými produkty.

Další významnou oblastí, která vyžaduje zásadní zlepšení, je povolování staveb v ČR. Dosavadní praxe několika let schvalování je v zásadním rozporu s naléhavostí požadavků na rychlé řešení dopadů války na Ukrajině a zavádění nových zásadních inovací¹³.

Svaz chemického průmyslu ČR (cit.¹⁴) navrhuje zásadně změnit systém využívání emisních povolenek, které jsou dnes předmětem aktivit různých spekulantů. Navrhujeme, aby původce emisí nakupoval povolenky podle současného modelu a prostředky, které za ně utratí, by byly vázány pro účely jeho investic do ekologizace výroby. Podobně jako je tomu u skládek, kde je povinnost ukládat pení-

ze, které lze následně použít jen na budoucí rekultivaci takové skládky. Takový systém by umožnil masivně snižovat emise v relativně krátké době a nezvyšoval by cenu elektřiny. Pro mnohé společnosti ze zpracovatelského průmyslu, včetně průmyslu chemického, je velmi důležitým tématem cena energií. Společnosti nejsou schopny si zvýšené ceny vstupů přenést do nákladů. Mnohé menší společnosti fungují jen díky setrvačnosti majitelů a jejich ochotě financovat ztráty z jiných zdrojů.

Dalším problémem se jeví chemofobie určité části společnosti, která je do značné míry vytvářena významnými médii, rizika z úniku chemických látek jsou často zveličována bez hlubší znalosti skutečných rizik. S tím souvisí i nízký počet absolventů chemických oborů a obtížné získávání kvalifikovaných pracovníků pro chemický průmysl především v příhraničních regionech ČR, i přes nadprůměrně atraktivní podmínky ve srovnání s provozy, nevyžadující kvalifikovaný personál. Je nutné si uvědomit, že chemický průmysl funguje jako neviditelná podpora mnoha různých oblastí, včetně zemědělství a farmacie, a že produkce chemických látek je motivována potřebou dalších jejich využití pro uspokojování mnohdy nenahraditelných lidských potřeb. Například až do objevu syntézy amoniaku na počátku 20. století byl hladomor poměrně běžným jevem, o významu syntetických léčiv pro zdraví populace není nutné se detailně rozepisovat. Chemický průmysl je také nezastupitelný v prakticky všech pokročilých a nízkoemisních technologiích pro získávání energie. Například při dostatečném množství levné a nízkoemisní energie je možné zajistit dostatek kvalitních paliv z dvou naprosto běžných surovin, oxidu uhličitého a vody, vyrobená paliva jsou minimálně stejně kvalitní jako běžná ropná paliva.

5. Závěr

Aktualizovaná CM a SVA poskytují řadu námětů jak pro státní orgány, tak pro podnikatelskou sféru a výzkumné organizace pro jejich strategie transformace. Věda, výzkum, vývoj a technologie hrají zásadní roli při dosahování udržitelnosti v chemickém průmyslu. Stejně důležitá jsou politická rozhodnutí, podpořená společenskou podporou a koordinovanými politickými přístupy, což se bohužel prozatím ne vždy chápe a k tomu chybí i globální nadhled a vize budoucnosti. Paradoxem dnešní doby je skutečnost, že zatímco ceny energií raketově rostou, řada koncepcí k naplnění cílů GND je založena na dostatku levné elektrické energie. Navíc podmínky v jednotlivých státech EU k naplnění cílových ukazatelů GND jsou diametrálně odlišné, např. při naplnění podílu OZE na celkovém energetickém mixu.

Lze důvodně předpokládat, že vysoké ceny energií, omezení dodávek plynu, Strategie udržitelnosti chemikálií a další restriktce ze strany EU vyvolají zastavení některých výrobních chemikálií v ČR, jak to vidíme již dnes např. v Lučebních Závodech Draslovka a.s. Kolín, kde ukončili výrobu kyanidu draselného a výrobu přenesli do USA,

v oblasti průmyslových hnojiv a dalších pro ekonomiku ČR důležitých chemických látek. To však bude mít dopad nejenom do objemu chemické výroby v ČR, ale zejména na navazující průmyslová odvětví, jako je automobilový průmysl, zemědělství a další odvětví. Navíc se bude zvyšovat závislost na dovozu potřebných chemických látek mimo EU, ale také to významně spolu s pokračující digitalizací ovlivní strukturu zaměstnanosti v chemickém průmyslu ČR.

Proto je tak důležité, aby omezené lidské kapacity a zdroje českého chemického průmyslu byly soustředěny na nadějně projekty, dále se posilovala mezinárodní spolupráce ve výzkumu a byly účelně využívány i dosažené výsledky evropského výzkumu a vývoje. Investice do nových inovativních technologií rozhodně mají smysl nejen pro byznys, ale i pro celou společnost. Výhodnost investice se zatím stále hodnotí klasickou účetní závěrkou a finanční analýzou. To se však v nejbližších letech pravděpodobně výrazně promění, protože do hry vstupují kritéria ESG a taxonomie. Tato kritéria významně deformují volný trh směrem k investicím zaměřeným na ochranu klimatu.

Je zásadní budovat vztahy se zahraničními partnery, vytvářet dlouhodobé vazby se špičkovými vědeckými pracovišti a posilovat mezinárodní spolupráci včetně zvyšování účasti českých výzkumných organizací a týmů v rámci programu Horizon Europe (zejména u aktivit Evropské rady pro výzkum, partnerství a schémat v rámci Evropské inovační rady). Pro ČR je klíčové, aby efektivně zacílila své kapacity výzkumu, vývoje a inovací a dokázala reagovat na dynamický vývoj ve společnosti včetně rychlého rozvoje nových technologií, především však na tzv. velké společenské výzvy. Je potřeba věcně vymezit priority ke zvýšení odolnosti společnosti a motivovat poskytovatele k podpoře specificky zaměřených výzkumných programů relevantních pro oblasti definovaných hrozeb s celospolečenským dopadem. Události spojené s pandemií Covid-19, zejména však dopady války na Ukrajině, budou mít zásadní vliv na směřování systému VaVpI a prioritizaci podpory jednotlivých oborů i multidisciplinárních týmů směrem k odvrácení dalších hrozeb.

Hlavní cíl platformy SUSCHEM CZ, kterým je udržitelnost českého chemického průmyslu, si vyžádá další finance pro aplikovaný výzkum a na inovační investice. Hrozící výpadek dodávek plynu a neustálé zvyšování ceny elektřiny nutí velké firmy omezovat výrobu, nebo rovnou uvažovat o změně paliva nebo přenesení výroby mimo EU. Bez mimořádně efektivních inovací bude náročné udržet konkurenceschopnost českého chemického průmyslu. Narušení stávajících dodavatelských řetězců a cenových relací významně narušuje dosavadní obchodní modely. Mimořádné úkoly stojí také před odborným školstvím, aby včas vychovalo potřebné odborníky pro realizaci Průmyslu 4.0, cirkulární ekonomiky a uplatňování zcela nových obchodních modelů.

LITERATURA

1. Mlčoch A., Novák L., Šilhan M.: Chem. Listy 115, 205 (2021).
2. Communication from Commission to the European Parliament, the European Council, The European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions, Com/2019/640/ final, staženo 30. 11. 2022.
3. <https://www.consilium.europa.eu/cs/policies/green-deal/fit-for-55-the-eu-plan-for-a-green-transition/>, staženo 30. 11. 2022.
4. https://commission.europa.eu/strategy-and-policy/priorities-2019-2024/european-green-deal/repowereu-affordable-secure-and-sustainable-energy-europe_cs, staženo 30. 11. 2022.
5. 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, staženo 30. 11. 2022.
6. <https://www.consilium.europa.eu/cs/press/press-releases/2021/03/15/council-approves-conclusions-on-the-eu-chemicals-strategy-for-sustainability/>, staženo 30. 11. 2022.
7. ČEZ, a. s., Vize 2030 ČEZ - Čistá energie zítřka, červen 2021, https://www.cez.cz/webpublic/file/eede/ospol/fileexport-s/pro-investory/investor-relations/vh2021_cv/cj/vh2021_02a_vize-2030-cz.pdf, staženo 30. 11. 2022.
8. Herink T.: Development trends of the Orlen Unipetrol Group, *ICCT konference Mikulov*, 2022.
9. BASF Corporate Strategy, https://www.basf.com/global/en/investors/basf-at-a-glance/strategy.html#accordion_v2-851d2b5e89-item-dcc1170d19, staženo 30. 11. 2022.
10. European Commission, Joint Research Centre, Caldeira, C., Farcal, L., Garmendia Aguirre, I., et al., Safe and sustainable by design chemicals and materials : framework for the definition of criteria and evaluation procedure for chemicals and materials, Publications Office of the European Union, 2022, <https://data.europa.eu/doi/10.2760/487955>. Staženo 13. 12. 2022.
11. Cestovní mapa velkých výzkumných infrastruktur ČR, MŠMT, 2019, <https://www.msmt.cz/cestovni-mapa-velkych-vyzkumnych-infrastruktur-cr>, staženo 30. 11. 2022.
12. REGULATION (EC) NO 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals.
13. Studie dopadů balíčku Fit for 55 na hospodářství ČR, závěrečná zpráva Deloitte, srpen 2022.
14. AGROFERT magazín, jaro 2022, https://www.agrofert.cz/sites/default/files/magazin/agrofert_magazin_jaro_2022.pdf, staženo 30. 11. 2022.

M. Šilhan^{a,b}, L. Novák^a, and A. Mlčoch^a (^a *Czech Technology Platform for Sustainable Chemistry, Prague,*
^b *Research Center Řež, Husinec – Řež, Czech Republic*):
Strategic Research Agenda of SUSCHEM CZ

The paper informs about the updated Strategic Research Agenda of the Czech Technology Platform for Sustainable Chemistry, mainly in context of the recent and upcoming chemical legislation and expected restrictions. Selected investments in the chemical industry are mentioned.

Keywords: chemical industry, research, innovation, SRA

EXKURZE DO CHEMICKÝCH PODNIKŮ – METODIKA, TVORBA INTERAKTIVNÍ MAPY CHEMICKÉHO PRŮMYSLU A PODPŮRNÝCH MATERIÁLŮ

KAMILA PETRŽELOVÁ, KLÁRA SADÍLKOVÁ a MARTA KLEČKOVÁ

*Katedra anorganické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, 17. listopadu 1192/12, 771 46 Olomouc
kamila.petrzelova@upol.cz*

Došlo 4.11.22, přijato 13.1.23.

Exkurze je jedna z forem výuky, při které mohou žáci názorně vidět propojení teoreticky probíraného učiva s praxí, a uvědomit si užitečnost získaných znalostí pro běžný život. Organizace exkurze je však pro učitele časově velmi náročná.

V úvodu článku seznamujeme čtenáře s metodikou exkurze včetně možných chyb. Představujeme výsledky dotazníkového šetření mezi učiteli chemie na fakultních středních školách Univerzity Palackého v Olomouci, které je zaměřeno na pořádání exkurzí do chemického podniku. V dalším textu pak představujeme část nových webových stránek s názvem „CHEMIE ŽIJE!“, kde je vytvořena interaktivní mapa anorganického chemického průmyslu České republiky, která může být užitečnou pomůckou pro organizování exkurzí. Na webových stránkách jsou také volně ke stažení příslušné materiály k daným exkurzím – dokument s informacemi o exkurzi, teoretická příprava pro učitele o dané technologii, materiál sloužící k přípravě na exkurzi, pracovní listy spolu s řešením a materiál sloužící k upevnění získaných znalostí.

Klíčová slova: exkurze, chemický podnik, didaktická hra, pracovní list, dotazníkové šetření, mapa, webové stránky

1. Úvod

Motivace v edukačním procesu je velmi důležitá¹. Učitelé se snaží žáky přimět k tomu, aby se chtěli učit. Mnohdy se ale stává, že žák není vnitřně přesvědčen o důležitosti probíraného učiva pro život¹. V takovém případě může být vzdělávání velmi neefektivní¹⁻³. Exkurze, jakožto jedna z forem výuky, dokáže propojit školu s běžným životem a dát vzdělávání atraktivnější rozměr⁴. Provádí se v mimoškolním prostředí a umožňuje žákům poznat objekty a jevy v podmínkách pracovního procesu^{5,6}.

Výuka chemie je neodmyslitelně spojena také s průmyslovou výrobou, proto se nabízí exkurze do chemického podniku jako možnost „přímého styku s realitou“. Pro úspěšnou realizaci exkurze je významná jak příprava učitele, tak příprava žáků⁷, bez níž se může exkurze stát neefektivní⁸. Ačkoliv bylo v poslední době vybraným tématům o přírodovědných exkurzích věnováno několik závěrečných prací na fakultách vzdělávacích budoucí učitele⁹⁻¹⁶, žádná z nich se nevěnuje pouze velkým chemickým podnikům v České republice a neposkytuje kompletní pohled na chemický průmysl.

Cílem příspěvku je seznámit čtenáře se správnou metodikou exkurze, prezentovat výsledky dotazníkového šetření, které zjišťovalo postoj učitelů středních škol k chemickým exkurzím a současně představit on-line interaktivní mapu českého chemického průmyslu, která je doplněna podpůrnými materiály pro uspořádání chemické exkurze, které by se mohly stát užitečnou pomůckou pro učitele středních a vysokých škol.

2. Exkurze

V Pedagogickém slovníku je exkurze definovaná jako:

„Skupinová návštěva významného nebo zajímavého místa či zařízení, která má poznávací cíl. Jedna z organizačních forem výuky konaných v mimoškolním prostředí má příznivý vztah k obsahu vyučování: ilustruje, doplňuje, rozšiřuje žákovu zkušenost.“¹⁷

Existují však autoři, kteří nepovažují exkurzi za organizační formu výuky, ale za metodu výuky¹⁸. Exkurze podporuje názornost vyučování, prohlubuje společensko-vědní, přírodovědné, technické nebo pracovní znalosti žáků, umožňuje propojení teoretických poznatků s běžným životem, díky čemuž si žáci zapamatují nejvíce informací. Vyučování také získává atraktivnější rozměr. Poznatky, které se žáci při exkurzi dozví, mohou do značné míry motivovat k dalšímu učení nebo k získání nových zájmů¹⁹.

Při vyučovacím procesu je pro dosažení efektivity nezbytné dodržovat didaktické zásady. Jedná se o požadavky, kterými by se měl učitel řídit při vedení vyučování. Již Jan Ámos Komenský se problematikou didaktických zásad zabýval. Za jednu z nejdůležitějších považoval zásadu názornosti, která patří mezi nejvýznamnější i v současné době. Mezi další zásady patří: zásada vědeckosti, zásada spojení teorie a praxe (spojení školy se životem), zásada posloupnosti a další²⁰. Při realizaci exkurze se uplatňují především zásada názornosti a spojení teorie a praxe.

Komenský doporučoval „*Proto budiž učitelům zlatým pravidlem, aby všecko bylo předváděno všem smyslům, kolika možno. Totiž věci viditelné zraku, slyšitelné sluchu, vonné čichu, chutnatelné chuti a hmatatelné hmatu; a může-li býti vnímáno najednou více smysly, budiž to předváděno více smyslům.*“²¹

Hlavním účelem zásady spojení teorie a praxe je propojit získané vědomosti a dovednosti s běžným životem. V souvislosti s exkurzí má tato zásada významnou roli. Žáci mohou získávat informace z reálného prostředí při sledování jednotlivých výrob a technologií. Na základě získaných informací mohou následně vyvozovat závěry, vyplňovat pracovní listy, ale také mohou získat větší zájem o probírané učivo²⁰.

Fáze exkurze

Exkurze by měla mít vymezený cíl a přímý vztah k obsahu výuky⁴. Při stanovení cíle by se mělo dbát především na věk a fyzickou zdatnost žáka, předchozí poznatky a praktické zkušenosti²². Aby byla exkurze pro žáky přínosná, je nezbytné, aby byla promyšlená a velmi dobře naplánovaná²⁰. Je důležité si promyslet, co by žákům daná exkurze měla přinést, zda je prostředí vhodně didaktizované (například vhodný výklad pro žáky), nebo jaké poznatky z výuky budou žáci při exkurzi využívat^{20,22}. Exkurzi můžeme rozdělit do tří hlavních částí. Jedná se o část přípravnou, o vlastní realizaci a o zhodnocení²⁰.

Přípravná část exkurze

Tato fáze exkurze je velmi náročná. Neobsahuje pouze přípravu učitele, ale i žáka. Učitel musí přesně vymezit výukový cíl exkurze a její obsah²⁰. Řeší, zda je exkurze vhodná s ohledem na obsah učiva ve školním vzdělávacím programu²³. Při stanovování cílů se vychází z prekonceptů. Jedná se o znalosti, které žáci získali při výuce, případně které předpokládáme, že znají z vlastní zkušenosti. Formulují se kognitivní cíle (změna ve znalostech), afektivní cíle (změna postojů), a také cíle psychomotorické (změna v dovednostech)¹⁸. Dále je potřeba domluvit program u příslušných odborníků a následně objednat exkurzi. Na tomto základě učitel vypracuje harmonogram akce, promyslí dopravu pro žáky, finanční náklady, případné ubytování a v neposlední řadě dostatečný dozor. Tyto informace je nutné projednat s vedením školy a předat žákům a zákonným zástupcům. Velice žádoucí také je, aby učitel vypracoval pracovní listy nebo úkoly, které žáci budou v průběhu exkurze řešit. Pro přípravu takových úkolů je velmi důležité, aby učitel znal prostředí, ve kterém se daná exkurze bude odehrávat, a věděl, jaká bude její náplň²⁰. Před vlastní realizací sestaveného programu je nezbytné žáky na exkurzi připravit. V neposlední řadě je třeba seznámit žáky s bezpečnostními pravidly²⁰. Žáci musí následně potvrdit svým podpisem, že byli s pravidly seznámeni²². Tato přípravná část je velmi důležitá, dochází u ní k upřesnění vzdělávacího cíle celé exkurze²⁰.

Vlastní realizace exkurze

Tuto fázi exkurze můžeme rozdělit do několika kroků. Nejprve se jedná o sraz před exkurzí, při kterém je důležité zopakovat zásadní informace ohledně organizace, zopakovat úkoly, které byly zadané žákům a rozdat pracovní listy, které budou využity v průběhu exkurze. Druhý krok zahrnuje samotnou cestu na určené místo. Následuje realizace naplánovaného programu, při kterém žáci plní zadané úkoly. Na závěr je dobré udělat krátkou předběžnou kontrolu úkolů a shrnout exkurzi. Následuje návrat do školy¹⁸.

Zhodnocení exkurze

Při následující hodině by mělo dojít ke kontrole a vyhodnocení pracovních listů a úkolů, které žáci plnili během exkurze. Důležitou fází je zhodnocení exkurze žáky, kteří se mohou vyjádřit k průběhu exkurze formou diskuse, písemné zpětné vazby, nebo prostřednictvím dotazníku. V hodnocení žáků se odrazí jejich celková spokojenost s exkurzí, tedy vhodnost zvoleného tématu, náročnost úkolů, které museli v průběhu plnit, metody, které byly zvoleny a další aspekty¹⁸. Dále je velmi důležitá sebereflexe učitele. Ten provede zpětnou vazbu a zhodnotí, zda exkurze proběhla podle naplánovaného harmonogramu, jestli připravené pracovní listy byly pro žáky adekvátně obtížné nebo zda byla exkurze pro žáky zajímavá a především přínosná. Také je důležité se zamyslet nad tím, zda by bylo možné příště exkurzi provést lépe (v čem by se mohla zdokonalit). Míru účinnosti exkurze učitel zhodnotí podle stupně dosažení stanovených cílů¹⁸. Dále probírané učivo by mělo navazovat a opírat se právě o nově získané informace²².

Chyby při realizaci exkurze

Při organizaci exkurze se může objevit celá řada chyb. Mezi zásadní chyby patří nepřesné stanovení výukových cílů, kdy cíle exkurze nejsou dostatečně konkretizované, případně nejsou stanoveny vůbec. V takovém případě není ani možné vyhodnotit účinnost exkurze. Časté nedostatky se projevují v případě, že učitel postrádá organizační schopnosti a nedokáže vhodně odhadnout časové, finanční a případně další hlediska celé exkurze. Při samotném průběhu exkurze může dojít k tomu, že učitel nebude důsledný při kontrole žáků (především nedůsledná kontrola, zda všichni pracují na zadaných úkolech). Také může dojít k organizačním problémům. Může nastat situace, že žáci dobře nevidí na dané objekty, případně neslyší výklad v průběhu exkurze. Velkým nedostatkem často bývá, že po skončení exkurze chybí navazující školní aktivity, v průběhu kterých by měla nastat kontrola úkolů a vyhodnocení exkurze¹⁸.

3. Dotazníkové šetření

Pro zmapování situace týkající se exkurzí na středních školách bylo provedeno dotazníkové šetření mezi učiteli chemie na středních školách dle metodiky v cit.^{24–26}. Online dotazník byl vytvořen v Google Forms a byl rozeslán prostřednictvím e-mailu fakultním školám Univerzity Palackého v Olomouci. Celkem se jednalo o 105 učitelů z 31 středních škol. Dotazník obsahoval 13 otázek, přičemž hlavním záměrem šetření bylo získat informace ohledně problematiky exkurzí do chemických podniků – zda jsou exkurze pořádány (případně kam), jaká jsou pozitiva a negativa při pořádání exkurzí, z jakých zdrojů vyučující čerpají informace o možných exkurzích. Další otázky směřovaly na to, zda vyučující připravují žáky před exkurzí, a jaké materiály či informace by jim pomohly pro realizaci exkurzí. Dotazníkové šetření probíhalo od 16. 2. 2022 do 21. 3. 2022, bylo získáno 32 úplných odpovědí od vyučujících z 18 různých středních škol.

Přehled otázek v dotazníkovém šetření:

1. Jaký je název školy, na které vyučujete?
2. Jaká je Vaše aprobace? (například chemie – matematika)
3. Myslíte si, že je zařazování exkurzí do výuky užitečné?

Výběr jedné z možností:

- ano
- spíše ano
- nevím
- spíše ne
- ne

4. Jak často v rámci jedné třídy pořádáte exkurzi do chemického podniku? (otázka se nevztahuje na období zasazené restrikcemi v souvislosti s onemocněním COVID-19)

Výběr jedné z možností:

- nepořádám
- jednou za školní rok
- vícekrát za školní rok
- jednou za studium

5. V případě, že exkurze pořádáte, uveďte, jaké podniky navštěvujete. V opačném případě na otázku neodpovídejte.
6. Jaká jsou podle Vás pozitiva na zařazování exkurzí do výuky?
7. Jaká jsou podle Vás negativa na zařazování exkurzí do výuky?
8. Z jakých zdrojů získáváte informace o možných exkurzích pro studenty?

Výběr z možností:

- od kolegů
- z webových stránek vybraného podniku
- z jiných internetových zdrojů
- z telefonického rozhovoru s pracovníkem příslušného podniku
- jiné
- 9. Poskytujete svým žákům pracovní listy na dobu během exkurze? (v případě, že exkurze nepořádáte, tak

na otázku neodpovídejte)

Výběr jedné z možností:

- neposkytuji
- poskytuji tištěné pracovní listy
- jiná forma podpory žáka během exkurze

10. Jakým způsobem připravujete žáky na exkurzi? (v případě, že exkurze nepořádáte, tak na otázku neodpovídejte)

Výběr jedné z možností:

- nepřipravuji
- teoretickým výkladem
- didaktickou hrou
- jiné.....

11. Které informace nebo předem vypracované podklady by vám usnadnily plánování a realizaci exkurze? *Seznam možných chemických exkurzí v ČR; bližší informace o náplni možných exkurzí v daném podniku; pracovní list pro konkrétní exkurzi; přípravný materiál pro žáky před absolvováním exkurze; materiál pro upevnění znalostí získaných při exkurzi*

Pro každý materiál výběr jedné z možností:

- velmi užitečné
- užitečné
- málo užitečné
- neúčinné

12. Jak jsou pro vás následující kritéria důležitá pro výběr exkurze? *Cena exkurze; časová náročnost; organizační stránka; návaznost náplně exkurze na výuku ve škole; zájem žáků, předchozí zkušenost s danou exkurzí*

Pro každé kritérium výběr jedné z možností:

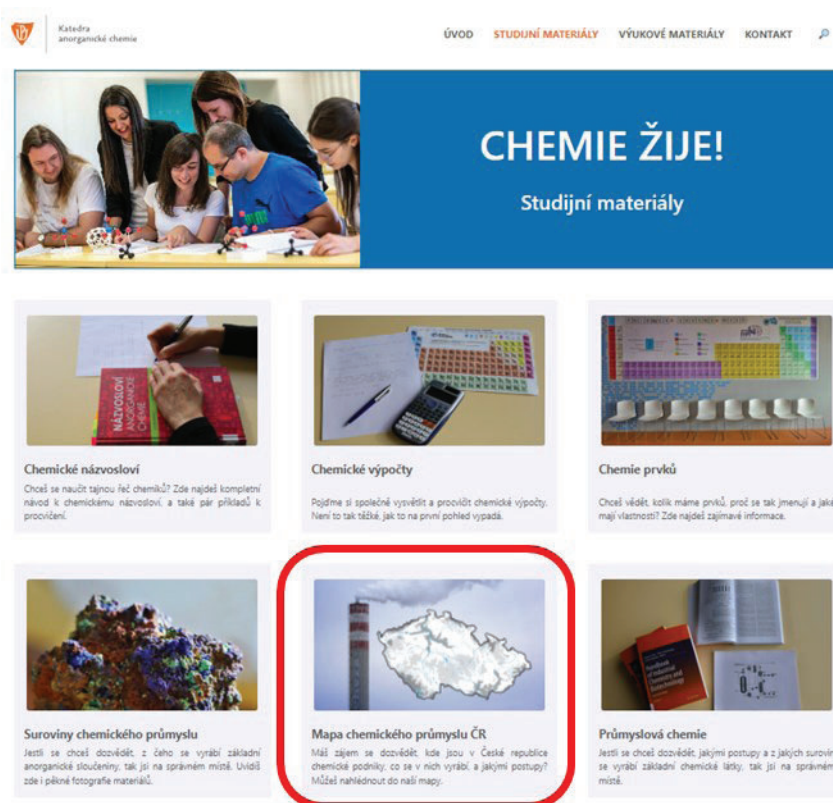
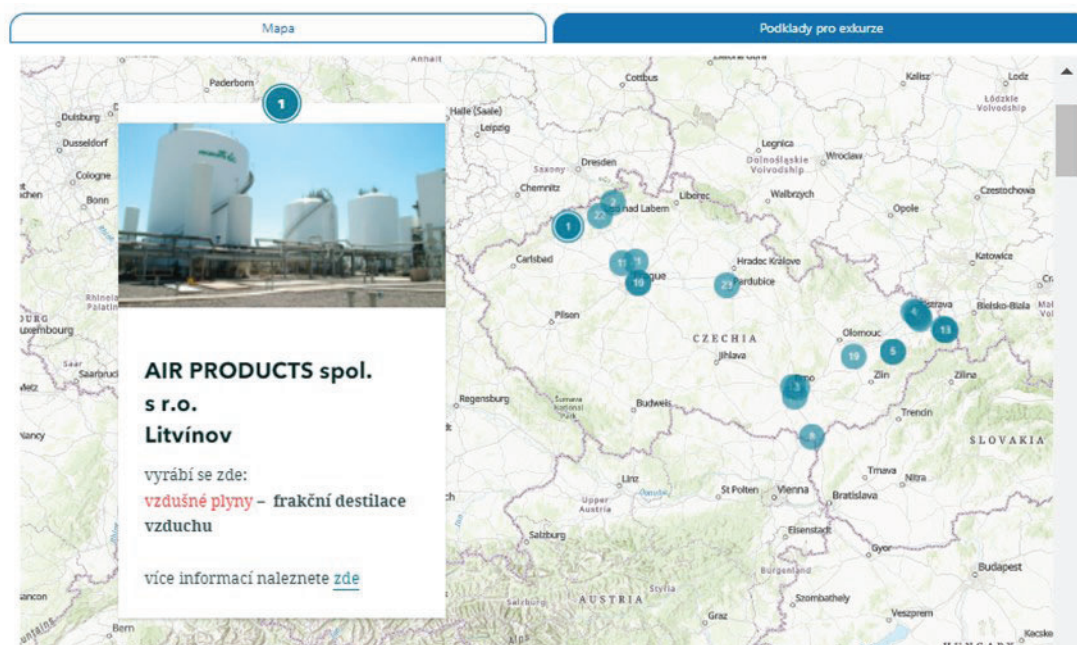
- velmi důležité
- důležité
- méně důležité
- nedůležité

13. Máte nějakou zajímavou zkušenost s pořádáním exkurze? Napadá vás nějaký jiný komentář k problematice exkurze?

4. Tvorba interaktivní mapy chemického průmyslu

Abychom učitelům usnadnili přípravu na chemické exkurze, rozhodli jsme se vytvořit webovou stránku „Mapa chemického průmyslu ČR“ (obr. 1), která je součástí webu s názvem „CHEMIE ŽIJTE!“ (<https://www.chemiezije.upol.cz/>).

V této interaktivní mapě jsou zaneseny chemické podniky, které vyrábí základní anorganické chemikálie nebo prvky. Mapa je vytvořena na platformě ArcGIS StoryMaps a ukazuje GPS pozici a informace o daném podniku (obr. 2). Rolováním prostředního tlačítka myši se posouvají jednotlivá okna podniků a mapa se centruje na místo, kde je daný podnik lokalizovaný. V informačním okně podniku je také vložen hypertextový odkaz, po jehož rozkliknutí je uživatel přesměrován na stránku s bližšími informacemi o podniku, a je možné si volně stáhnout podporné materiály k jednotlivým exkurzím.

Obr. 1. Webové stránky – „CHEMIE ŽIJE!“ (<https://www.chemiezije.upol.cz/studijni-materialy/>)Obr. 2. Stránka s interaktivní mapou (<https://www.chemiezije.upol.cz/kategorie-studijnich-materialu/interaktivni-mapa-chemickeho-prumyslu-cr/>)

K informacím o jednotlivých podnicích a podpůrným materiálům pro exkurze se můžeme dostat také po kliknutí na záložku Podklady na exkurze, přičemž se otevře stránka, která obsahuje všechny námi zmapované podniky, které v České republice vyrábí prvky a základní anorganické sloučeniny. Návštěvník stránek si následně může vybrat podnik, který ho zajímá.

5. Výukové materiály k exkurzím

Pro správné provedení exkurze jsme se snažili učitelům vytvořit sadu podpůrných materiálů, které jsou volně ke stažení na webových stránkách „CHEMIE ŽIJE!“ v okně Mapa chemického průmyslu ČR v záložce Podklady pro exkurze.

Informace o exkurzi

V případě, že daná společnost poskytla bližší informace o možnostech exkurze v podniku, byly tyto poznatky zpracované do dokumentu, ve kterém je uvedena časová náročnost exkurze, cena exkurze, cíl exkurze, zařazení exkurze s ohledem na RVP, kontakt na příslušnou osobu a možnosti exkurze v daném podniku.

Teoretická příprava pro učitele

Aby se učitel mohl lépe zorientovat v dané technologii, případně mohl žáky teoreticky připravit na exkurzi, byly vytvořeny dokumenty, ve kterých je popsána technologie, která se v daném podniku používá. Ke každé výrobě bylo vytvořeno v programu SmartDraw schéma, které zachycuje výrobu rozdělenou do několika kroků. Celkem v jedenácti dokumentech je popsána výroba NH_3 (Haber-Boschova syntéza), Cl_2 , NaOH/KOH (membránová elektrolýza), výroba zředěné i koncentrované HNO_3 (katalytická oxidace amoniaku, přímé a nepřímé postupy), HCl (přímá syntéza, chlorovodík z organických syntéz), H_2SO_4 (kontaktní způsob), H_3PO_4 (termický způsob), pigmentů (TiO_2 – sulfátový způsob, sazí – retortový způsob, železité červeně – kalcinací zelené skalice), H_2 (parciální oxidace, parní reforming), vzdušných plynů (frakční destilace vzduchu), železa a ocele (vysokoteplotní redukce železné rudy, zkujňování – způsob Siemens-Martinův, způsob kyslíkový, způsob elektrometalurgický).

Výukové materiály k jednotlivým exkurzím

Dále byly zpracovány výukové materiály pro jednotlivé exkurze. Obsahují aktivity pro přípravu studentů na danou exkurzi a materiál pro opakování, který poslouží k upevnění získaných poznatků. Vytvořeny byly především didaktické hry, a to karetní hry, deskové hry, pohybové hry a dále online hry (celkem 20 aktivit, např. DOMINO, Chemikův svět atd.). Aktivity, které jsou určeny pro přípravu před exkurzí, jsou primárně zaměřeny na danou sloučeninu, která se v daném chemickém podniku

vyrábí. V některých aktivitách jsou zařazeny také otázky a úkoly, které se týkají většího tematického celku. Materiál tak lze využít nejen na přípravu žáků na exkurzi, ale také jako materiál pro opakování daného tematického celku, díky tomu má aktivita širší využití. V materiálech sloužících k upevnění znalostí po exkurzi je více podrobností o dané technologii nebo podniku, proto je primárně využitelný po absolvování exkurze, případně je možné jej využít jako materiál do seminářů chemie, nebo jako rozšiřující výukový text.

Pracovní listy během exkurze

Na základě získaných informací od jednotlivých podniků byly vytvořeny v programu SmartDraw příslušné pracovní listy použitelné během exkurze, společně s jejich autorským řešením. Vždy je vytvořený pracovní list, který se vztahuje k danému podniku a k jednomu produktu, který se v této společnosti vyrábí, a obsahuje různorodé úkoly, které se vztahují k teorii dané technologie. Závěr pracovního listu obsahuje zajímavé otázky, které žáky mimo jiné motivují k aktivnímu zapojování do exkurze. Na tyto otázky není odpověď v autorském řešení, jelikož se jedná spíše o zajímavosti z výroby a je nezbytné odpovědi získat přímo na dané exkurzi.

6. Výsledky a diskuse

Zařazení exkurze do chemického podniku hraje v přírodovědném vzdělání významnou roli především na střední a vysoké škole. Po organizační stránce se však jedná o velmi náročnou akci, která vyžaduje řádnou přípravu. Provedené dotazníkové šetření (kapitola 3) mělo za úkol zjistit, zda učitelé pořádají exkurze pro žáky středních škol, případně kam. Pozornost byla také věnována tomu, jaké pozitivní či negativní stránky vnímají učitelé na zařazování exkurzí do výuky, jak se o možnostech návštěv podniků dozvídají, jaké materiály žákům poskytují, popřípadě jaké materiály či informace by jim usnadnily realizaci dané exkurze.

Prvním zajímavým výstupem byla data, která byla získána z otázky číslo 3, která se respondentů ptala, zda si myslí, že je zařazování exkurzí do výuky užitečné, přičemž 65,6 % dotazovaných zvolilo možnost ano a 31,3 % možnost spíše ano. Tedy celkem 96,9 % z vybraných učitelů chemie považuje exkurze za důležitou součást výuky. Čtvrtá otázka zjišťovala, jak často učitelé pro své žáky pořádají exkurze (v rámci jedné třídy). Z odpovědí vyplynulo, že 71,9 % respondentů uspořádá exkurzi pro žáka alespoň 1× za studium. Z předchozích otázek tedy vyplývá, že 25 % učitelů považuje exkurze za důležitou součást výuky chemie, ale i přes tento názor je nepořádají. Ve srovnání s dříve provedenými výzkumy je to vysoké číslo. Například z dotazníkového šetření z roku 2011 vyplynulo¹⁰, že jen 9 % pedagogů na čtyřletém gymnáziu do výuky exkurzi nezařazuje, přičemž jako hlavní důvody uváděli časovou náročnost, malou náklonnost vedení škol

i svých kolegů, zhoršující se úroveň jejich žáků, a z toho vyplývající nutnost větší časové dotace na samotné klasické vyučovací hodiny¹⁰. V roce 2014 proběhlo další rozsáhlé dotazníkové šetření¹² zaměřené na exkurze v ČR, ve kterém jen 3 % respondentů uvedlo, že na exkurze nechozí vůbec. Dále tento výzkum ukázal, že učitelé základních škol, gymnázií a středních odborných škol zařazují přírodovědnou exkurzi do výuky nejčastěji jedenkrát za školní rok (40 %), nebo alespoň jedenkrát za dobu studia žáků (35 %). Na základních školách a SOŠ dokonce až 15 % učitelů zařazuje exkurzi do výuky častěji¹². Výsledky našeho dotazníkového šetření ukazují, že jako hlavní negativum při pořádání exkurze vnímají učitelé časovou a organizační náročnost, případně ztrátu vyučovacích hodin v jiných předmětech (obr. 3), na rozdíl od výsledků šetření z roku 2014, kde za největší překážku považovali učitelé cenu (finanční náklady), kterou zvolilo více jak polovina učitelů¹². Naopak jako hlavní pozitivum je vnímáno propojení teorie s praxí, názornost chemie nebo motivace žáků.

Naše další otázka (č. 8) zjišťovala, z jakých zdrojů učitelé získávají informace o možnostech exkurzí. Nejčastějším zdrojem informací jsou kolegové, druhým zdrojem jsou informace získávané z webových stránek vybraného podniku. Otázka č. 9 dále zkoumala, zdali učitelé poskytují svým studentům pracovní listy na dobu během exkurze, přičemž 21,7 % učitelů uvedlo, že poskytuje pro žáky tištěné pracovní listy a 13 % poskytuje jinou formu podpory. Tedy více než polovina učitelů nepodporuje pozornost žáka na exkurzi pomocí pracovního listu nebo jiným způsobem. Převážná většina (75 %) učitelů, kteří odpověděli na otázku, své žáky připravuje na exkurzi teoretickou přípravou, avšak 20,8 % žáky dokonce nepřipravuje vůbec. Žádný z dotazovaných nevyužívá k tomuto účelu didaktic-

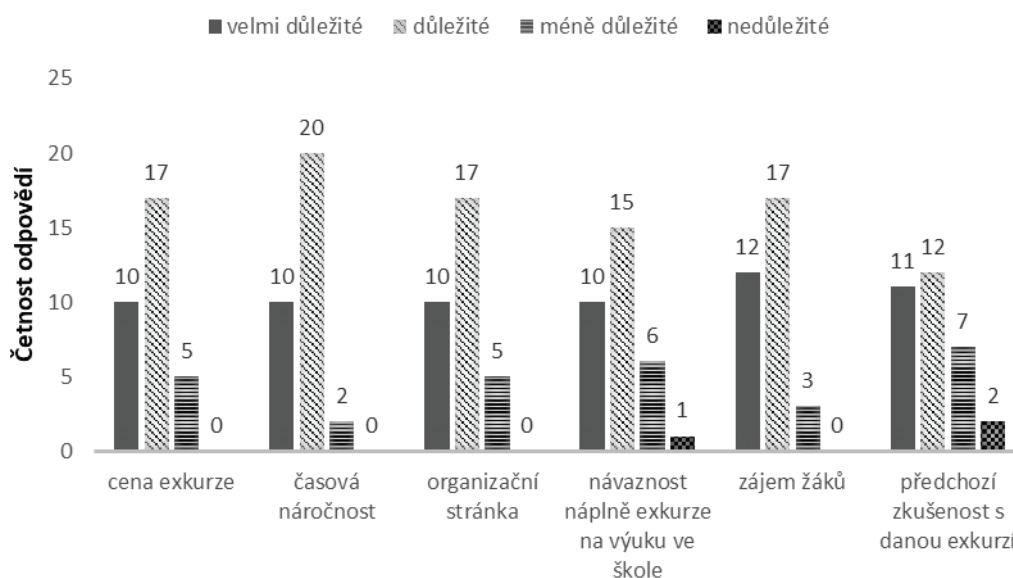
ké hry. Použitím podpůrných materiálů během a po exkurzi se zabývala také studie z roku 2011, kde bylo zjištěno, že významnou roli při hodnocení exkurzí hrají referáty, pracovní listy i jiné způsoby hodnocení¹⁰. Nejoblíbenějším způsobem hodnocení přírodovědných exkurzí na osmiletých i čtyřletých gymnáziích a středních odborných školách jsou referáty. Časté je také použití pracovních listů během a po exkurzi, přičemž získané výsledky jsou velmi podobné těm z naší provedené šetření. Tato studie¹⁰ se však věnovala obecně všem přírodovědným exkurzím.

V otázce číslo 11 každý z dotazovaných vybíral ke každé položce, jak moc by byla užitečná pro plánování a realizaci exkurze. Z nabídky (seznam možných chemických exkurzí v ČR, bližší informace o náplni možných exkurzí v daném podniku, pracovní list pro konkrétní exkurzi, přípravný materiál pro žáky před absolvováním exkurze a materiál pro upevnění znalostí získaných při exkurzi) učitelé hodnotili, jak moc by jim připravený daný dokument usnadnil práci. Nejvíce by byl oceněn seznam možných chemických exkurzí a bližší informace o těchto exkurzích. U ostatních položek však také převládal názor, že připravené dokumenty by byly pro učitele přínosné (obr. 4). Obdobně ve výzkumu z roku 2014 by učitelé ocenili při výběru exkurze mapu ČR s vyznačenými lokalitami¹².

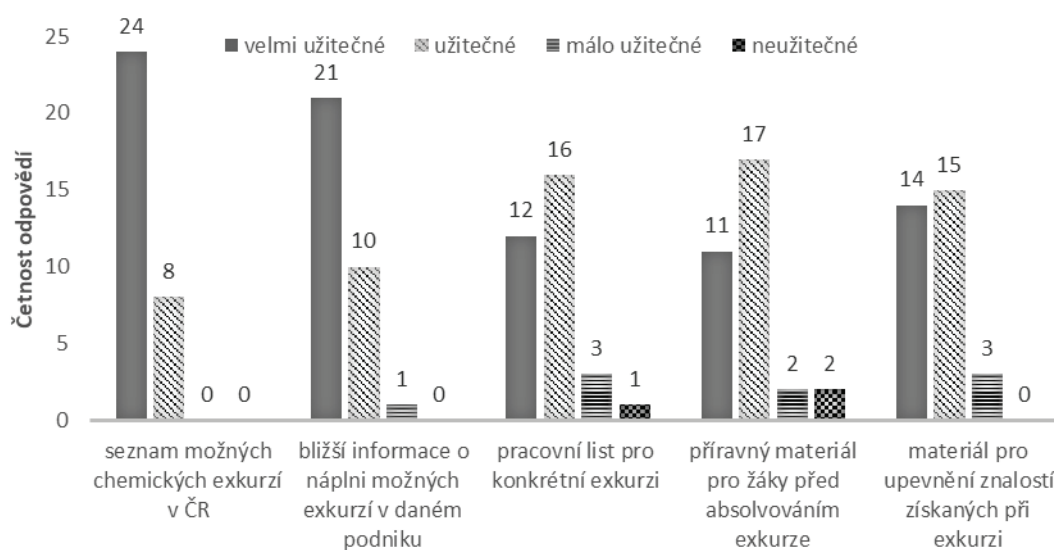
V rámci poslední otázky č. 13 se mohl každý z respondentů volně vyjádřit k problematice exkurzí. Nejzajímavější postřehy jsou:

„Kdyby se vám podařila realizace, co nabízíte, bylo by to pěkné. Zájem podniků o exkurze je však velmi vrtkavý. Spíše je potřeba taktu, aby vás vůbec na exkurzi pustili.“

„Dlouhodobě se exkurzím věnuji, doporučuji kolegům, archivuji materiály. Prostě exkurze mám ráda.“



Obr. 3. Grafické znázornění odpovědí na otázku č. 12 (Jak jsou pro Vás následující kritéria důležitá pro výběr exkurze?)



Obr. 4. Grafické znázornění odpovědí na otázku č.11 (Které informace nebo předem vypracované podklady by vám usnadnily plánování a realizaci exkurze?)

„Během mé dlouholeté praxe se snížil počet míst, kam můžeme na exkurzi. Hodně snížil.“

Pro usnadnění správného uspořádání exkurze byla vytvořena řada podpůrných materiálů, především didaktických her (celkem 20 různých aktivit), které byly uloženy do připravené mapy chemického průmyslu ČR“ (obr. 1), která je součástí webu s názvem „CHEMIE ŽIJE!“ (<https://www.chemieziije.upol.cz/>)²⁷.

Abychom ověřili, zda jsou vytvořené materiály využitelné při výuce chemie, požádali jsme prostřednictvím e-mailu učitele středních škol o objektivní kritiku. Výstupy práce byly prostřednictvím e-mailu opět zaslány fakultním školám Univerzity Palackého v Olomouci (105 učitelů z 31 středních škol). Byl jim zaslán internetový odkaz na vytvořené webové stránky spolu s krátkým komentářem. Celkem jsme obdrželi devět slovních reakcí, přičemž se učitelé k připraveným materiálům vyjadřovali pozitivně²⁷. Pro ukázkou zde uvedeme zpětnou vazbu učitelky ze Střední průmyslové školy Hranice:

„Jsem moc ráda, že jsem se dostala k Vaší práci, protože jsem doposud nikdy žádné takové možnosti exkurzí pro studenty chemie na středních školách neviděla. Zároveň jsem objevila další materiály pro svou výuku, které Vaše katedra vytváří.

A teď k vaší práci...

- přehledně seřazené materiály pro exkurze, včetně kontaktů a webových stránek

- dobře vypracované pracovní listy (lze využít i při normální výuce jako procvičení) – zde opravdu chválím, perfektní přehlednost, jasné zadání, a líbí se mi, že jste vypracovala pracovní listy i pro žáky během exkurze, což třeba já nikdy nevyužívala (pro mě inspirace)

- výborný seznam firem, které jsou ochotné exkurze provádět, a hlavně umožňují vpustit do závodu studenty (což není pravidlem)

- pro učitele SŠ chemického zaměření určitě využitelný materiál

Mně osobně se materiály líbí a určitě je využiji při dalším plánování exkurzí.“

Objektivní kritika učitelů přinesla spoustu zajímavých postřehů²⁷. Lze z ní také usuzovat, že se sestavené podpůrné materiály k realizaci exkurzí mohou stát vhodným výukovým materiálem pro učitele středních škol. Vypracované materiály spolu s informacemi, mohou ulehčit organizační stránku exkurze.

7. Závěr

Zařazování exkurzí do výuky je důležité. Po organizační stránce se však jedná o velmi náročnou akci, která vyžaduje řádnou přípravu. Provedené dotazníkové šetření ukázalo, že 96,9 % z vybraných učitelů chemie považuje exkurze za důležitou součást výuky, nicméně pouze 71,9 % respondentů uspořádá exkurzi pro žáka alespoň 1× za studium. Pro usnadnění pořádání exkurzí jsme pro učitele vytvořili interaktivní mapu chemického průmyslu, která zahrnuje celkem 17 podniků vyrábějících chemické prvky nebo základní anorganické sloučeniny, které je možné navštívit. Pro každý podnik a výrobní technologii jsou na těchto webových stránkách vypracovány podpůrné materiály pro uspořádání exkurze²⁷.

V současné době plánujeme rozšíření interaktivní mapy chemického průmyslu o organické technologie.

Navázali jsme také spolupráci s Univerzitou Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, která již začala pracovat na rozšíření mapy o slovenský chemický průmysl.

LITERATURA

- Petty G.: *Moderní vyučování*, 6. vyd. Portál, Praha 2013.
- Ginnis P.: *Efektivní výukové nástroje pro učitele: strategie pro zvýšení úspěšnosti každého žáka*. EDUKAČNÍ LABORATOŘ, Praha 2017.
- Nehring A., Nowak K. H., zu Belzen A. U., Tiemann R.: *Int. J. Sci. Educ.* 37, 1343 (2015).
- Čapek R.: *Moderní didaktika: lexikon výukových a hodnotících metod*. Grada, Praha 2015.
- Pecina P.: *Fenomén odborného technického vzdělávání na středních školách*. Masarykova univerzita, Brno 2017.
- Bajtoš J.: *Didaktika vysoké školy*, 2. vyd. Wolters Kluwer SR s.r.o., Praha 2020.
- Bílek M., Králíček I.: *Exkurze jako stěžejní organizační forma výuky v muzejní didaktice*. http://pdf.uhk.cz/muzdid/materialy/Exkurze_kralicek_bilek.pdf, staženo 30. 11. 2022.
- Pavlasová L.: *Přírodovědné exkurze ve školní praxi*. Univerzita Karlova v Praze, Praha 2015.
- Helán M.: *Návrh exkurze do podzemního zásobníku plynu. Bakalářská práce*. Masarykova univerzita Brno, Brno 2014.
- Štěpánková J.: *Rozvoj přírodovědných kompetencí žáků pomocí aktivních činností (zaměřeno na přírodovědné exkurze)*. *Disertační práce*. Univerzita Karlova v Praze, Praha 2014.
- Voborný J.: *Exkurze jako motivace k výběru povolání. Bakalářská práce*. Masarykova univerzita Brno, Brno 2015.
- Papírníková L.: *Chemická exkurze ve středoškolském vzdělávání. Bakalářská práce*. Univerzita Karlova v Praze, Praha 2013.
- Kosinka J.: *Exkurze jako součást vzdělávání žáků střední školy. Diplomová práce*. Masarykova univerzita Brno, Brno 2018.
- Odehnal A.: *Exkurze. Diplomová práce*. Masarykova univerzita Brno, Brno 2019.
- Kornelý L.: *Náměty na chemické exkurze na Znojemsku. Diplomová práce*. Masarykova univerzita Brno, Brno 2020.
- Brymová L.: *Exkurze pro 2. stupeň ZŠ. Diplomová práce*. Masarykova univerzita Brno, Brno 2020.
- Průcha J., Walterová E., Mareš J.: *Pedagogický slovník*. Portál, Praha 1995.
- Pavlasová L.: *Přírodovědné exkurze ve školní praxi*. Univerzita Karlova v Praze, Pedagogická fakulta, Praha 2015.
- Skalková J.: *Obecná didaktika: vyučovací proces, učivo a jeho výběr, metody, organizační formy vyučování*. Grada, Praha 2007.
- Janiš K.: *Obecná didaktika – vybraná témata*. GAUDEAMUS, Hradec Králové 2010.
- Komenský J. A.: *Didaktika velká*, 2. vyd. Dědictví Komenského, Praha 1930.
- Svobodová J.: *Exkurze ve výuce*. Metodický portál RVP.CZ. Národní pedagogický institut České republiky. <https://clanky.rvp.cz/clanek/k/z/10081/EXKURZE-VE-VYUCE.html/>, staženo 4. 2. 2022.
- Janiš K.: *Obecná didaktika: Distanční studijní text*. Slezká Univerzita, Opava. https://repozitar.cz/repo/39416/Obecna_didaktika.pdf, staženo 2. 2. 2022.
- Gavora P.: *Úvod do pedagogického výzkumu*, 2. vyd. Paido, Brno 2010.
- Emanovský P.: *Úvod do metodologie pedagogického výzkumu*. Univerzita Palackého, Olomouc 2013.
- Maňák J., Švec V.: *Cesty pedagogického výzkumu*. Paido, Brno 2004.
- Sadílková K.: *Tvorba podpůrných materiálů pro exkurze do chemických podniků vyrábějících základní anorganické sloučeniny. Diplomová práce*. Univerzita Palackého, Olomouc 2022.

K. Petrželová, K. Sadílková, and M. Klečková
(Department of Inorganic Chemistry, Palacký University, Olomouc, Czech Republic): **Excursions to Chemical Plants – Methodology, Creation of Interactive Map of Chemical Industry and Supporting Materials**

An excursion is one of the forms of teaching in which students can see the connection between the theoretically discussed subject and practice, and realize the usefulness of the acquired knowledge for everyday life. However, organising an excursion is very time-consuming for teachers.

In the introduction of this article, we describe the methodology of the excursion, pointing out possible occurrence of mistakes. We present the results of a questionnaire survey at the faculty high schools of Faculty of Science of Palacký University in Olomouc, which is focused on organizing excursions to a chemical plants. In the following text, we present a part of a new website called "CHEMIE ŽIJE!" ("Chemistry is Alive"), where an interactive map of the inorganic chemical industry of the Czech Republic is created, which can be a useful tool for organizing excursions. On the website, materials for the excursions are freely downloadable, e.g., documents informing generally about excursions, theoretical preparation of teachers regarding the given technology, a material used to prepare for the excursion, worksheets with solutions and a material used to consolidate the acquired knowledge.

Keywords: excursion, chemical company, didactic game, worksheet, questionnaire survey, map, website

Metrohm demonstrační laboratoř na Univerzitě Karlově



 **Metrohm**
Česká republika



www.metrohm.cz



Cena Rudolfa Lukeše

za excelentní chemii

nadační
příspěvek

100 000
Kč

za
soubor
prací

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

přihlaste se do
31. března 2023

www.experientia.cz

eXperientia
NADACE



OBSAH**ÚVODNÍK**

- O stylistice našich autorů** 137
J. Podešva

REFERÁTY

- Detailnější pohľad na extrakčné postupy vhodné na separáciu nanočastíc zlata z environmentálnych vôd** 138
I. Hagarová a L. Nemček
Jasmonáty, ich biosyntéza, metabolizmus a signálna dráha v rastlinných organizmoch 147
M. Mergová, A. Balažová, M. Obložinský,
I. Holková, P. Mučaji a S. Bittner Fialová

PŮVODNÍ A METODICKÉ PRÁCE

- Orientační test přítomnosti derivátů fentanylové řady metodou tenkovrstvé chromatografie** 155
R. Jelínková, I. Moravcová a P. Žuja
Využití somatických kolifágů při sledování hygienické nezávadnosti recyklovaných odpadních vod 163
J. Zuzáková, D. Janák, E. Vobecká
a J. Říhová Ambrožová

CHEMICKÝ PRŮMYSL

- Strategická výzkumná agenda SUSCHEM CZ** 170
M. Šilhan, L. Novák a A. Mlčoch

VÝUKA CHEMIE

- Exkurze do chemických podniků – metodika, tvorba interaktivní mapy chemického průmyslu a podpůrných materiálů** 177
K. Petrželová, K. Sadílková a M. Klečková

CONTENTS**EDITORIAL**

- On Our Authors' Stylistics** 137
J. Podešva

REVIEW ARTICLES

- A Further Insight into Extraction Procedures Suitable for Separation of Gold Nanoparticles from Environmental Waters** 138
I. Hagarová and L. Nemček
Jasmonates, Their Biosynthesis, Metabolism and Signalling Pathway in Plant Organisms 147
M. Mergová, A. Balažová, M. Obložinský,
I. Holková, P. Mučaji, and S. Bittner Fialová

ORIGINAL AND METHODOLOGICAL PAPERS

- Orientation Test for the Presence of Fentanyl Derivatives by Thin-Layer Chromatography** 155
R. Jelínková, I. Moravcová, and P. Žuja
Use of Somatic Coliphages in Biosensing of Hygiene Safety of Recycled Wastewater 163
J. Zuzáková, D. Janák, E. Vobecká,
and J. Říhová Ambrožová

CHEMICAL INDUSTRY

- Strategic Research Agenda of SUSCHEM CZ** 170
M. Šilhan, L. Novák, and A. Mlčoch

EDUCATION IN CHEMISTRY

- Excursions to Chemical Plants – Methodology, Creation of Interactive Map of Chemical Industry and Supporting Materials** 177
K. Petrželová, K. Sadílková, and M. Klečková

Odborná skupina termické analýzy České společnosti chemické



pořádá

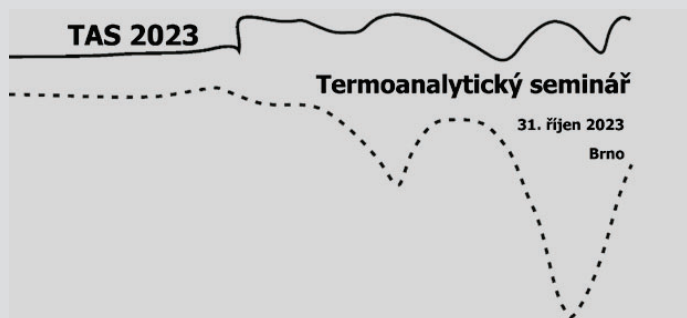
TERMOANALYTICKÝ SEMINÁŘ

31. říjen 2023

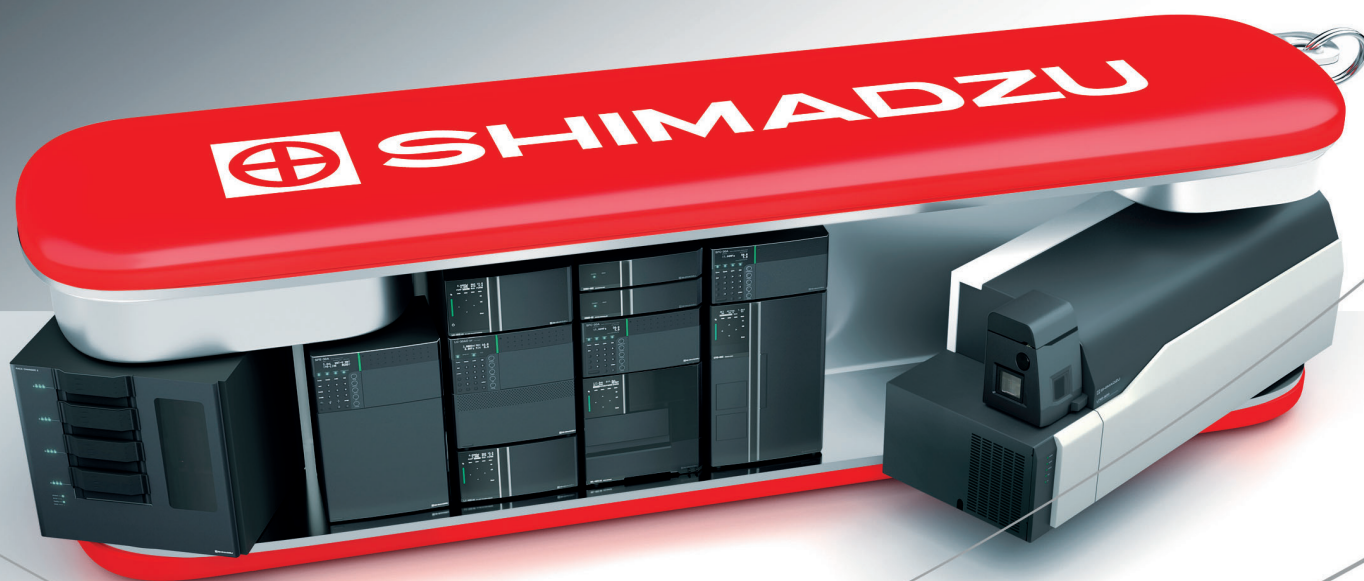
Ústav fyziky materiálů AVČR, v.v.i,
Brno

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

Kontakt na organizátory: petra.sulcova@upce.cz



CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 117 (2023), čís./no. 3 • **LISTY CHEMICKÉ**, roč./vol. 147, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 133 • ISSN 0009-2770, ISSN 1213-7103 (e-verze) • evidenční číslo MK ČR E 321 • Vydává Česká společnost chemická jako časopis Asociace českých chemických společností ve spolupráci s VŠCHT Praha, s ČSPCH a ÚOCHB AV ČR za finanční podpory Rady vědeckých společností ČR, Akademie věd ČR, Nadace Český literární fond a kolektivních členů ČSCh • IČO 444715 • Published by the Czech Chemical Society • 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, ČR) • TECHNICKÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: R. Rápková • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: K. Bláha, L. Červený, E. Dibuszová, L. Grubhoffer, J. Hanika, Z. Havlas, M. Hof, Z. Hostomský, J. Káš, M. Koman, P. Konvalinka, J. Kotek, J. Koubek, J. Málek, P. Matějka, K. Melzoch, V. Pačes, M. Pospíšil, V. Růžička, P. Slaviček, I. Stibor, J. Zima, T. Zima • ADRESA PRO ZASÍLÁNÍ PŘÍSPĚVKŮ/MANUSCRIPTS IN CZECH, SLOVAK OR ENGLISH CAN BE SENT TO: Chemické listy, Novotného Lávka 5, 116 68 Praha 1; tel./phone +420 221 082 370, e-mail: chem.listy@csvts.cz • INFORMACE O PŘEDPLATNÉM, OBJEDNÁVKY, PRODEJ JEDNOTLIVÝCH ČÍSEL A INZERCE/INFORMATION ADS: Sekretariát ČSCh, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel. +420 221 082 383, e-mail: chem.spol@csvts.cz, chem.ekonom@csvts.cz • PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL: <http://www.chemicke-listy.cz> • TISK: TG TISK s.r.o., 5. května 1010, 563 01 Lanškroun • SAZBA, ZLOM: ČSCh, Chemické listy • Copyright © 2023 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 180 Kč, roční plné předplatné 2023 (12 čísel) 1810 Kč, individuální členské předplatné pro členy ČSCh 900 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 96 EUR (doručování via SCHS), individuální členské předplatné pro členy ČSCh 73 EUR (doručování via SCHS), 96 EUR + poštovné (individuální doručování), ceny jsou uvedeny včetně DPH • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG • This journal has been registered with the Copyright Clearance Center, 2322 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923, USA, where the consent and conditions can be obtained for copying the articles for personal or internal use • Pokyny pro autory najdete na <http://www.chemicke-listy.cz>, zkratky časopisů podle Chemical Abstract Service Source Index (viz <http://casi.cas.org/search.jsp>) • Chemické listy obsahující Bulletin jsou zaslány zdarma všem individuálním a kolektivním členům ČSCh a ČSPCH v ČR i zahraničí, do všech relevantních knihoven v ČR a významným představitelům české chemie a chemického průmyslu; v rámci dohod o spolupráci i členům dalších odborných společností • Molekulární námět na obálce: V. Spiwok • Dáno do tisku 27.2.2023.



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

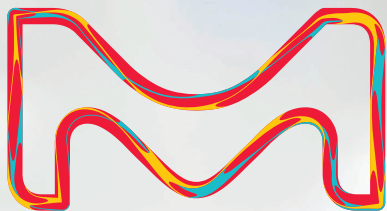
Rychlejší průtoky, vyšší výkon a nižší náklady na analýzu

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





illuminated synthesis

FROM DISCOVERY TO SCALE-UP

Photoreactors and photoredox catalysts to deliver consistency and reproducibility to your research, including the following highlights:

- Popular stirred and cooled Penn PhD photoreactor M2 accepting reaction vials from 1 mL up to 40 mL and equipped with exchangeable modular LED light sources with 450, 420, 395 and 365 nm wavelengths for your highest flexibility.
- LightOx PhotoReact 365 photoreactor designed for high-throughput screening of photochemical and photobiological reactions and used with a standard size culture multi-well plate.
- Large selection of iridium, ruthenium, acridinium and other photoredox catalysts and kits for chemical biology.

Learn more: SigmaAldrich.com/photocatalysis



The Life Science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich[®]
Lab & Production Materials