Toto číslo, věnované vztahu chemie, zemědělství a potravinářství, navazuje na 7/2002 a 10/2001. Stejně jako uvedená předchozí čísla, je vydáváno za finanční podpory Ministerstva zemědělství České republiky.

Co potřebuje zemědělský výzkum od chemiků?

Pohled naší veřejnosti na zemědělství a zemědělce není příliš příznivý. Zemědělci jsou – často pod vlivem některých sdělovacích prostředků – posuzováni jako lidé s nepříliš velkou zodpovědností vůči přírodnímu prostředí a zdravotní nezávadnosti potravinových surovin. Mnoho lidí svůj kritický postoj odvozuje od používání chemických prostředků v zemědělství. Každý odborník však potvrdí, že současná velkovýroba ve vyspělých zemích se bez minerálních hnojiv, pesticidů, krmných aditiv a veterinárních přípravků neobejde. Dlouhodobá spotřeba těchto látek je v České republice nižší než např. ve většině zemí Evropské unie. Představa, že se můžeme vrátit k „předchemickým“ výrobním postupům z prvé poloviny 20. století, je laická a nereálná. Výroba tzv. biopotravin v ekologickém zemědělství může představovat jen zpestření nabídky na trhu, nikoli základ výživy celé populace.

Ve vyspělých zemích se výroba potravin zvýšila natolik, že plně pokrývá vlastní spotřebu a často se musí vyrovnávat s nadměrnou produkcí. Zemědělci proto potřebují od výzkumu již jen v omezené míře informace o tom, jak dosahovat co nejvyšších výnosů rostlinné produkce a užitkovosti zvířat při co nejnižších vstupech. V silně konkurenčním prostředí však nabývají podstatného významu otázky šetrnosti jednotlivých výrobních postupů vůči přírodnímu prostředí a kvality produkovaných potravních surovin, potravin a krmiv. Pojem kvalita je přitom chápán velmi široce a ve většině hledisek se uplatňují jednotlivé obory chemie a biochemie. V tomto směru má k zemědělství nejblíže chemie a analýza potravin.

Při hodnocení kvality a zdravotní nezávadnosti potravin se pozornost v uplynulých desetiletích soustředila především na škodlivé složky, označované souhrnně jako cizorodé či kontaminující látky. Ty se do potravin mohou dostávat, příp. v nich vznikat, od zemědělské prvovýroby přes skladování až po zpracování. Patří sem jak rezidua použitých agrochemikálií, tak látky, které se do zemědělských produktů dostaly z jiných zdrojů (např. polycyklické aromatické uhlovodíky, ftaláty, dioxiny), nebo vznikly za nevhodných podmínek skladování a zpracování (např. mykotoxiny či nitrosaminy). Četnost těchto látek se zvyšuje s jejich rostoucím použitím ve vyspělých státech, rozšiřujícími se zdravotními poznatky a stále dokonalejšími analytickými metodami. Co jsme před několika léty věděli třeba o roli syntetických analogů pižma? Naproti tomu je třeba připomenout, že rezidua řady dříve významných pesticidů i jiných kontaminantů se v našich podmínkách již po léta vyskytují v neškodných koncentracích.

Velký prostor má výzkum na úseku přirozených škodlivých látek potravních surovin i krmiv rostlinného původu. Rostliny se nemohou bránit proti konzumentům a jiným škůdcům změnou své polohy, proto si mnohé z nich vývojově vytvořily účinné chemické obranné systémy, z nichž asi nejznámější jsou alkaloidy. Látek s podobnými rolemi je ale řada – např. saponiny, glukosinoláty, toxické aminokyseliny a bílkoviny, některé fenolické sloučeniny. Ve výživě člověka i hospodářských zvířat mohou působit jako antinutriční, případně až toxické složky.

Na druhé straně se však musí velké úsilí výzkumu věnovat složkám potravních surovin s příznivými účinky na lidské zdraví, především pro prevenci významných civilizačních chorob, jakými jsou poruchy oběhového systému, některé typy rakoviny, osteoporóza či poruchy trávení. Od 80. let se v nejvyspělejších zemích prosazuje vývojová koncepce tzv. funkčních potravin. Ty nejsou jen zdrojem nezbytných živin, ale obsahují ve zvýšené míře i látky s příznivými účinky na zdraví konzumenta a jeho tělesný a duševní stav. Takové potraviny se stávají přechodem mezi běžnými potravinami a léky.

Výzkum bude moci zodpovědět mnoho z uvedených otázek jen pokud bude k řešení přistupovat mezioborově. Zemědělství a chemie mohou na této spolupráci jen získat, protože přístup chemiků vesměs bere jen v omezené míře v potaz biologická hlediska a souvislosti a pracovníci zemědělského výzkumu mají jen omezený přístup ke špičkovým analytickým přístrojům a postupům. Ve snaze prosadit toto propojení vznikl studijní obor doktorského studia „zemědělská chemie“, který byl v roce 1998 akreditován na všech třech českých agronomických fakultách. Obor má nyní čtyři profesory a kolem tří desítek doktorandů.

Pro chemiky různého zaměření se tedy v současném zemědělském výzkumu nabízí škála účelných a náročných příležitostí. Jejich aktivní účast by byla bezesporu přínosem. Dokládají to články z obou předchozích tématických čísel věnovaných zemědělství i příspěvky tohoto čísla Chemických listů.

Pavel Kalač
Zemědělská fakulta,
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Dvojitá šroubovice slaví padesátiny. Co bude dál?

Tento rok je mimo jiné významný tím, že uplynulo právě padesát let od doby, kdy James Watson a Francis Crick zveřejnili v časopise Nature svou studii s názvem Molecular Structure of Nucleic Acids, v níž poprvé popsali svůj objev dvojité šroubovice, charakterizující deoxyribonukleovou kyselinu. Nobelova cena za tento počin na sebe nenechala dlouho čekat a byla jim udělena již v roce 1962. Ve zdůvodnění k jejímu udělení se praví, že je tomu tak „za jejich objevy týkající se molekulární struktury nukleových kyselin a jejího významu pro přenos informace v živém materiálu". Pozoruhodná je již druhá věta věhlasného jednostránkového článku, opublikovaného v dubnu 1953: „Tato (dvojitě šroubovicová) struktura má nové prvky, jež jsou značně zajímavé pro biologii". Toto bylo dozajista věštecké prohlášení, leč žádný z obou autorů nemohl tušit, co čeká výzkum nukleových kyselin v nadcházejících letech.

O padesát let později se již sekvenování nukleových kyselin stalo rutinní záležitostí a široce se používá v humánní medicíně i v soudní praxi. Je-li vzorku málo, snadno si ho přidělámes použitím jiného divu moderní vědy – metody PCR (polymerase chain reaction). Zatím nejobtížnějším úkolem se zdá být sekvenování úplných genomů. Přesto se již podařilo rozšifrovat několik set genomů pocházejících z virů, bakterií, hmyzu, zvířat i rostlin. Vrcholem obtížnosti je ovšem dekódování lidského genomu. Ten je spolehlivě největším, jaký v současnosti známe. Jeho délka i složitost jsou značnou překážkou na cestě k dešifrování jeho sekvence. Jenom pro ilustraci: lidský genom se skládá ze tří miliard párů nukleotidů. Pokud by se ho podařilo napřímit, byl by dlouhý celých 1,8 metrů. O to zajímavější pak je, že se tento obr mezi makromolekulami vtěstná do jader pouhých 46 chromozomů. Stojí za zmínku, že jádro má velikost pouhých šest miliontin metru, tedy 6 μm. Výsledkem tohoto značného zahuštění je, že koncentrace DNA v jádře je až 100 g.l^{-1}. Pro srovnání, roztok syntetického polymeru se srovnatelnou molekulovou hmotností by byl při této koncentraci značně viskózní a spíše by připomínal gel. Bez ohledu na složitost lidského genomu se několik nadšenců, včetně Jamese Watsona, pokusilo o téměř nadlidské: Za prvé, přesvědčit úřady o tom, že výzkum lidského genomu je jak reálný, tak i důležitý a získat od nich finanční prostředky pro jeho realizaci, a za druhé, celý projekt uskutečnit. Obojí se nakonec podařilo. Celá akce, nazvaná příhodně „Human Genome Project", byla zahájena v polovině osmdesátých let minulého století s předpokládanou dobou ukončení za patnáct let s náklady 3 miliardy dolarů. Pro srovnání, cena Hubbleova teleskopu, jež obíhá Zemi na orbitální dráze, byla 1,5 miliardy. Nicméně, zatímco životnost teleskopu se odhaduje na 15–20 let, rozšifrovaný lidský genom s námi zůstane navždy. Jak již bylo naznačeno, výzkum se zdařil a mezinárodní konsorcium pro sekvenování lidského genomu, sdružující dvacet výzkumných center v šesti zemích (Čína, Francie, Japonsko, Německo, Velká Británie a USA), zkonstruovalo mapu celého genomu dokonce o několik let dříve než se předpokládalo.

Úspěch tohoto výzkumu však nepřišel bez značného úsilí na mnoha frontách. Tak například: první automatické sekvenovací aparatury, jež byly k dispozici na počátku projektu, byly schopny stanovit 250 bází za den. Při této rychlosti by dekódování genomu i při společném úsilí všech dvaceti institucí trvalo celých 1600 let, což by z celého projektu samozřejmě udělalo zcela nesmyslnou záležitost. Nicméně, díky neobyčejnému pokroku v rychlosti i kapacitě sekvenovacích technologií, dnešní instrumentace dokáže specifikovat 1,5 milionu bází denně a projekt mohl být díky tomu uskutečněn. Tento explozivní nárůst rovněž vedl ke značnému poklesu ceny přepočtené na jednu charakterizovanou bázi. Zatímco tato byla v roce 1990 zhruba 10 dolarů, v dnešní době se pohybuje na úrovni pěti centů, tedy 200× méně. Je pozoruhodné, že grafické znázornění těchto trendů připomíná tak často zmiňovaný Moorův zákon, podle kterého se počet tranzistorů v mikroprocesorech zdvojnásobuje každých 18 měsíců. Bude-li tento trend v genomice pokračovat i nadále, otevřou se nám dveře k nevídaným příležitostem. Tak například bude možná tzv. personalizovaná medicína, což znamená, že léky i procedury budou aplikovány na základě genetické informace každého jednotlivce. Samozřejmě to bude vyžadovat zmapování vlastního genomu každého člověka. Informace takto získané přispějí k včasné diagnostice genetické dispozice k nemocím, umožní genovou terapii, přípravu individualizovaných léků a personalizaci léčebných postupů. Zevšeobecnění mnoha genetických informací přispěje k odhalení tajemství fatálních nemocí, jako je rakovina, cukrovka, infarkt, schizofrenie a další. Má to však háček. Současná cena sekvenování jednoho genomu se odhaduje na 100 000 dolarů. Počet lidí, kteří by si to mohli dovolit, je tedy velice nízký. Naproti tomu, pokud by tato cena klesla na nějakých tisíc dolarů či ještě méně, celá vize personalizované lékařské péče by mohla být reálná. To ovšem bude vyžadovat nové, ještě produktivnější postupy, mezi nimiž jistě nebudou chybět i mikrofluidní systémy a techniky nanopórů.

Poté, co základní část projektu týkajícího se charakterizace lidského genomu byla ukončena, je nasnadě otázka „co dál". Všeobecně se soudí, že to bude studium proteomu. Tento výzkum se zabývá jednak přepisem genetických informací do řeči bílkovin, tedy činitelů, jež vykonávají biologicky důležité funkce, jednak sleduje změny ve složení i v koncentraci bílkovin v závislosti na stavu organismu, podmíněném vnějším okolím, nemocí, či léky. Srozumitelně řečeno to znamená, že chceme poznat přesné složení proteinů v organismu a jejich komparativní změny, zobrazující situaci téhož jedince, zdravého i nemocného. Tato znalost pak opět pomůže ke studiu účinků potenciálních léků, které budou připravovány v bohatém výběru s použitím metod kombinatoriální chemie a rych-

lého vyhodnocování. Tak na příklad porovnáním složení bílkovin či tzv. biologických značek v buňkách nemocného organismu před a po podání léku se získá informace o jeho účinnosti a toxicitě. To patrně zjednoduší a zrychlí mnohdy komplikované a časově náročné testy prováděné na zvířatech. Bohužel, i proteomika má svůj háček, ve skutečnosti pořádný hák. Všeobecně se soudí, že lidské tělo může obsahovat kolem 100 000 bílkovin, možná i daleko více, připočteme-li posttranslační modifikace. Přitom u valné většiny dosud nevíme, k čemu jsou vůbec dobré. Na rozdíl od genomu, jež je něco jako fotografie, kterou si můžeme schovat, a která se s časem příliš nemění, proteom je dynamický a mění se prakticky pořád. Jeho složení je tedy funkcí času. Ačkoliv se tyto změny mohou zdát zdánlivě malé, mohou mít velký význam pro stav celého organismu. Proto musí být monitorovány se stejnou frekvencí, s jakou se vyskytují, abychom z nich mohli vyvodit potřebné závěry. Toho bude možné dosáhnout opět pouze po kolosální změně experimentálních metod. Situace ne nepodobná té, s níž se studium genomu rovněž potýkalo na svém začátku. Současně nejužívanější metoda, dvourozměrná gelová elektroforéza, byla vyvinuta O'Farrellem před 28 lety. Ta asi sotva dokáže splnit požadavky budoucí proteomiky, neboť je pomalá, málo kvantitativní, vyžaduje značné laboratorní dovednosti a výsledky jednotlivých laboratoří se navzájem obtížně porovnávají. Takže, opět bude potřeba vyvinout nové, netradiční přístupy, mezi nimiž se mohou uplatnit mikrometody, jako je kapalinová chromatografie, elektrochromatografie, elektroforéza, a to jak v kapilárách, tak i v mikrofluidních čipech. Všechny tyto metody jsou kompatibilní s hmotnostní spektrometrií, metodou, která dnes patří k nejcitlivějším detektorům. Předešlé řádky naznačují, že v oblasti proteomiky je třeba vykonat ještě mnoho práce. Nezbývá však než se těšit, že i tato oblast dozná rozkvětu stejně jako v minulosti studium genomiky.

František Švec

IDENTIFIKACE A CHARAKTERIZACE ISOFLAVONŮ V ROSTLINNÝCH EXTRAKTECH ZA POUŽITÍ KOMBINACE HPLC S HMOTNOSTNÍM DETEKTOREM A DETEKTOREM S DIODOVÝM POLEM (HPLC-DAD-MS)

BOŘIVOJ KLEJDUS, DAGMAR ŠTĚRBOVÁ, PAVEL STRATIL a VLASTIMIL KUBÁŇ

Ústav chemie a biochemie, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno
e-mail: kuban@mendelu.cz

Došlo 30.10.01, přepracováno 14.12.02, přijato 4.1.03.

Klíčová slova: isoflavony, hmotnostní spektrometrie, rostlinný materiál, HPLC

Obsah

1. Úvod
2. Důkaz isoflavonů
3. Extrakce a izolace isoflavonů
4. Identifikace a stanovení isoflavonů
5. Závěr

1. Úvod

Rostlinná říše produkuje obrovská, a často řádově odlišná množství organických látek, které se většinou nezapojují přímo do procesu růstu a vývoje. Tyto látky označujeme jako sekundární metabolity. Základem jejich biosyntetické produkce jsou primární metabolity, přičemž hranice mezi primárními a sekundárními metabolity nejsou zcela jednoznačně definovány. Tyto látky jsou často odstupňovaně rozděleny mezi přesně vymezené taxonomické skupiny uvnitř rostlinné říše. Mnohé jejich funkce zůstávají doposud nepoznané.

Přírodní rostlinné metabolity můžeme rozdělit do tří hlavních skupin: terpeny, alkaloidy a fenylpropanoidy a jim příbuzné fenolické sloučeniny. Terpeny jsou odvozeny od prekurzoru isopentenyl-difosfátu (IPP) s pěti uhlíkovými atomy a zahrnují vedle primárních metabolitů také více než 25 000 sekundárních metabolitů. Alkaloidy, kterých je známo okolo 12 000, obsahují jeden nebo více atomů dusíku a jejich biosyntéza vychází především z aminokyselin.

Šikimátovou nebo malonát-acetátovou metabolickou cestou vzniká přes osm tisíc fenolických sloučenin. Převážná většina rostlinných fenolů, nikoliv však všechny, je odvozena z fenylpropanoidové a fenylpropanoid-acetátové cesty a v rostlině plní celou řadu významných fyziologických funkcí. Centrálními enzymy v fenylpropanoidovém metabolismu jsou fenylalaninamoniumlyasa (PAL) a tyrosinamoniumlyasa (TAL). Tyto enzymy konvertují fenylalanin (PAL) na skořicovou kyselinu a tyrosin (TAL) na *p*-kumarovou (4-hydroxy-skořicovou) kyselinu.

Jednotlivé skupiny fenolických látek sdílejí mnoho společných znaků vycházejících z jejich biochemických cest. K jedné z nejvýznamnějších skupin fenolických sloučenin patří flavonoidy. Tato skupina se skládá z rozmanitých skupin rostlinných metabolitů, mezi které patří chalkony, aurony, flavonony, isoflavonoidy, flavony, flavonoly, leukoanthokyanidiny (flavan-3,4-dioly), katechiny a anthokyanidiny. Skupina zahrnuje více než 4 500 sloučenin. Metabolické dráhy jednotlivých skupin jsou značně komplikované, jak ukazuje schéma A, které bylo modifikováno na základě literárních údajů[1–4] a které lze nalézt v internetovém doplňku k této práci na adrese http://chemicke-listy.vscht.cz/index_cz1250.html.

Isoflavonoidy tvoří významnou podskupinu patřící mezi flavonoidy. Existuje asi 629 známých struktur a z toho je popsáno okolo 364 aglykonů. Tyto sloučeniny se odlišují strukturně od dalších tříd flavonoidů vazbou benzenového kruhu (kruhu B) v pozici 3 heterocyklického systému. Jejich struktura (viz schéma A v internetovém doplňku a tabulka I) je založena na 3-fenylchromen-4-onu a liší se v míře hydroxylace, methylace a glykosylace[5,6].

Isoflavony jsou polohové izomery častěji se vyskytujících flavonů. Genistein je například biosynteticky odvozen přesunem arylu ze stejného chalkonového prekurzoru podobně jako flavon apigenin. Isoflavony jsou zastoupeny v rostlinné říši v menší míře než další flavonoidy. Tato skutečnost je potvrzena faktem, že isoflavony jsou zastoupeny převážně v omezeném počtu čeledí jako jsou *Fabaceae* a *Viciaceae*. V menší míře se vyskytují i v řadě dalších čeledí jako jsou *Papilionaceae*, *Iridaceae*, *Myristicaceae*, *Compositae*, *Amaranthaceae* a *Rosaceae*.

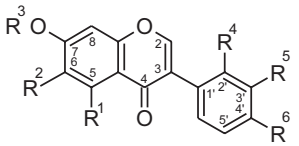
Isoflavony se vyskytují především v chloroplastech nadzemních částí orgánů rostlin, ve stopách i v kořenech (u některých rostlin pouze v kořenech, např. *Ononis spinnosa*). Vyskytují se jako látky konstituční, nebo se objevují jako následek působení stresu či za obou okolností. Na obsah isoflavonů má vliv řada biotických a abiotických faktorů. Isoflavony plní určité funkce v obranném systému rostliny jako přirozená ochrana proti infekci, při klíčení semen, napadení hmyzem a poškození škůdci. Tyto látky mohou po určitou dobu udržovat svoji biologickou aktivitu a ovlivňovat mikrobiální poměry v půdě.

Mezi nejznámější isoflavony patří aglykony daidzein, genistein, formononetin a biochanin A, jakož i jejich glykosidy daidzin, genistin, ononin a sissostrin. Isoflavony jsou slabými estrogeny. Vykazují estrogenní účinky na centrální nervovou soustavu, vyvolávají falešnou říji a stimulují růst pohlavních orgánů samic savců. Studie v oblasti humánní a veterinární medicíny i pokusy s tkáňovými kulturami dokládají důležitou roli těchto fytoestrogenů přijímaných v potravě v prevenci osteoporosy, menopausy, nádorových a srdečních onemocnění[7,8].

2. Detekce isoflavonů

Detekce a identifikace biologicky aktivních látek hraje strategickou roli ve fytochemickém výzkumu. Mezi rychlé orientační techniky patří především papírová (PC), tenkovrstvá (TLC) a případně i sloupcová chromatografie (CC). Pro

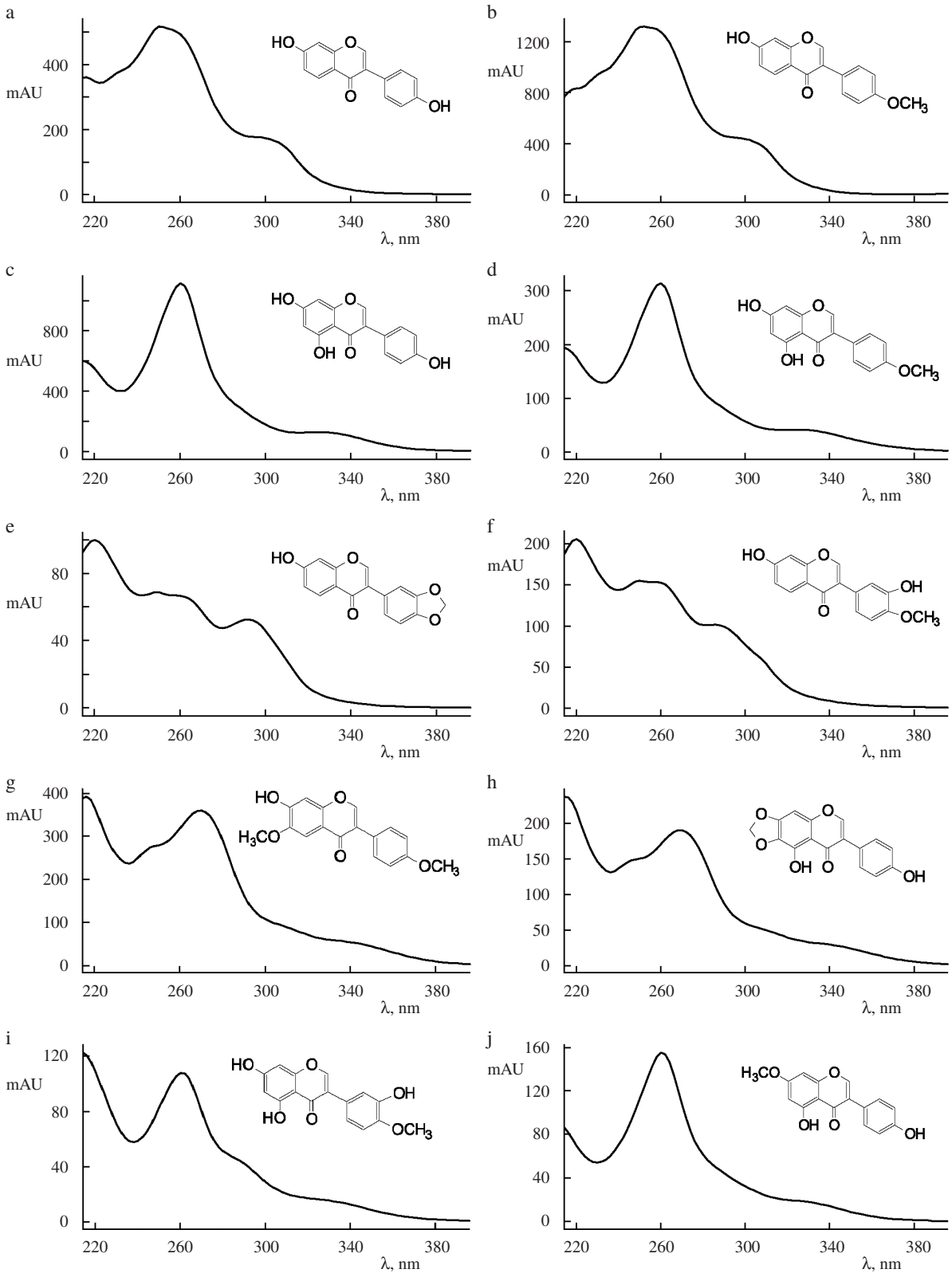
Tabulka I
Struktury isoflavonů



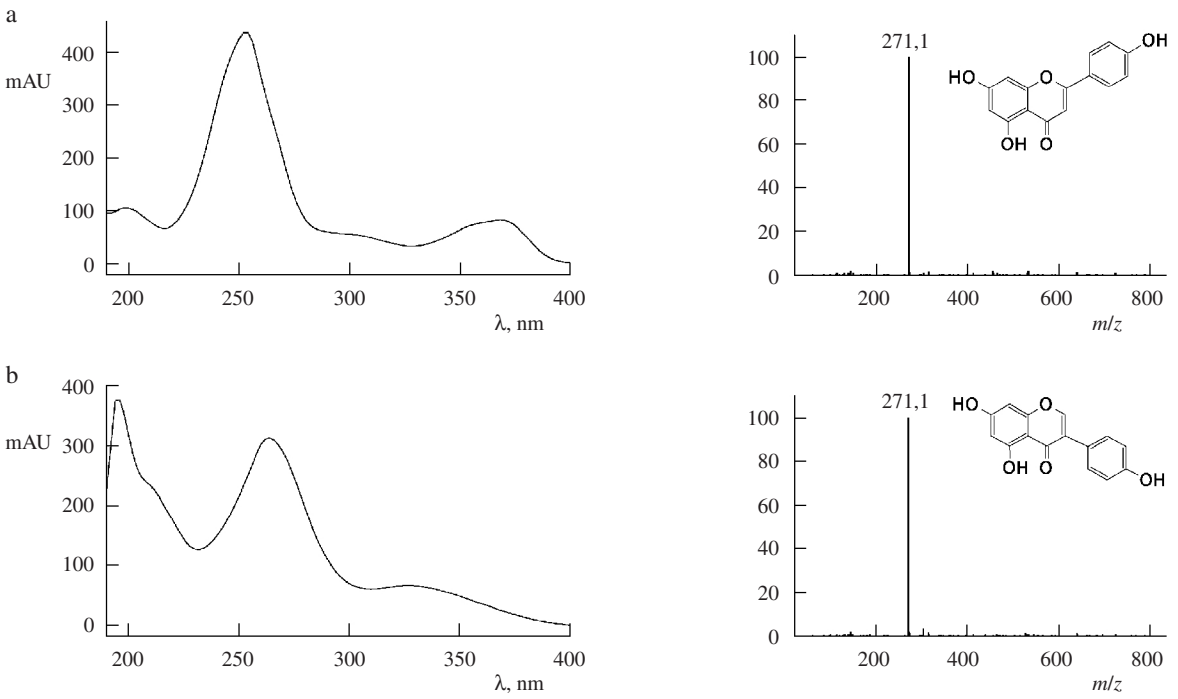
Isoflavony	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5	R^6
Daidzin	H	H	Glc	H	H	OH
Glycetin-7-*O*-β-D-glukosid	H	OCH_3	Glc	H	H	OH
Kalykosin-7-*O*-β-D-glukosid	H	H	Glc	H	OH	OCH_3
Genistin	OH	H	Glc	H	H	OH
Daidzein-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-malonát	H	H	GlcMal	H	H	OH
3-Methylorobol-7-*O*-β-D-glukosid	OH	H	Glc	H	OCH_3	OH
Pratensein-7-*O*-β-D-glukosid	OH	H	Glc	H	OH	OCH_3
Kalykosin-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-malonát	H	H	GlcMal	H	OH	OCH_3
Pseudobaptigenin-7-*O*-β-D-glukosid	H	H	Glc	H		OCH_2O
Daidzein-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-acetát	H	H	GlcAc	H	H	OH
Ononin (formononetin-7-*O*-β-D-glukosid)	H	H	Glc	H	H	OCH_3
Genistein-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-malonát	OH	H	GlcMal	H	H	OH
Orobol-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-malonát	OH	H	Glc	H	OH	OH
3-Methylorobol-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-malonát	OH	H	GlcMal	H	OCH_3	OH
Pratensein-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-malonát	OH	H	GlcMal	H	OH	OCH_3
Daidzein	H	H	H	H	H	OH
Irilon-4’-*O*-β-D-glukosid	OH	O-	CH_2-	H	H	Glc
Pseudobaptigenin-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-malonát	H	H	GlcMal	H		OCH_2O
Glycitein	H	OCH_3	H	H	H	OH
Orobol	OH	H	H	H	OH	OH
Kalykosin	H	H	H	H	OH	OCH_3
Formononetin-7-*O*-β-D-glukoside-6”-*O*-malon át	H	H	GlcMal	H	H	OCH_3
Afrormosin-7-*O*-β-D-glukosid	H	OCH_3	Glc	H	H	OCH_3
Sissotrin (biochanin A-7-*O*-β-D-glukosid)	OH	H	Glc	H	H	OCH_3
Irilin B-7-*O*-β-D-glukosid	OH	OCH_3	Glc	OH	H	H
Irilon-4’-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-malonát	OH		OCH_2	H	H	GlcMal
Trifosid (prunetin-4’-*O*-β-D-glukosid)	OH	H	CH_3	H	H	Glc
Afrormosin-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-malonát	H	OCH_3	GlcMal	H	H	OCH_3
Pseudobaptigenin-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-acetát	H	H	GlcAc	H		OCH_2O
Formononetin-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-acetát	H	H	GlcAc	H	H	OCH_3
Texasin-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-malonát	H	OH	GlcMal	H	H	OCH_3
Irilin B-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-malonát	OH	OCH_3	GlcMal	OH	H	H
3’-Methylorobol	OH	H	H	H	OCH_3	OH
Genistein	OH	H	H	H	H	OH
Biochanin A-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-malonát	OH	H	GlcMal	H	H	OCH_3
Pratensein	OH	H	OH	H	OH	OCH_3
Prunetin-4’-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-malonát	OH	H	CH_3	H	H	GlcMal
Pseudobaptigenin	H	H	H	H		OCH_2O
Irilon-4’-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-acetát	OH		OCH_2	H	H	GlcAc
Formononetin	H	H	H	H	H	OCH_3
Prunetin-4’-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-acetát	OH	H	CH_3	H	H	GlcAc
Texasin	H	OH	H	H	H	OCH_3
Biochanin A-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-acetát	OH	H	GlcAc	H	H	OCH_3
Irilon	OH		OCH_2	H	H	OH
Prunetin	OH	H	CH_3	H	H	OH
Biochanin A	OH	H	H	H	H	OCH_3

stanovení jednotlivých isoflavonů v rostlinných extraktech a biologických materiálech jsou s úspěchem používány především metody chromatografické (kapalinová a plynová chromatografie – HPLC a GC) a elektromigrační (kapilární elektroforéza a micelární elektrokinetická chromatografie – CE a MEKC).

Cenné informace o chemické struktuře studovaných metabolitů můžeme získat spektrálními technikami. Mezi off-line



Obr. 1. **Srovnání UV spekter isoflavonů**[22]; a – daidzein, b – formononetin, c – genistein, d – biochanin A, e – pseudobaptigenin, f – kalykosin, g – afrormosin, h – irilon, i – pratensein, j – prunetin



Obr. 2. **Porovnání UV a MS spekter apigeninu (a) a genisteinu (b) (cit.[22])**

Tabulka II
Identifikace píků a spektrální data extraktu *Trifolium pratense*[22]

Pík	t_r [min]	$[M+H]^+$ [*m/z*]	Fragment [*m/z*]	λ_{max} [nm]	Identifikované isoflavony
1	4,83	417	255	250,302	daidzin
2	5,30	447	285	258,286	glycetin-7-*O*-β-D-glukosid
3	6,20	447	285	250,286	kalykosin-7-*O*-β-D-glukosid
4	10,10	433	271	260,328	genistin
5	10,22	503	255	250,300	daidzein-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-malonát
6	11,15	463	301	264,330	3-methylorobol-7-*O*-β-D-glukosid
7	11,63	463	301	261,286,337	pratensein-7-*O*-β-D-glukosid
8	12,80	533	285	259,286	kalykosin-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-malonát
9	14,99	445	283	249,292	pseudobaptigenin-7-*O*-β-D-glukosid
10	16,70	431	269	251,300	ononin (formononetin-7-*O*-β-D-glukosid)
11	19,50	549	301	264,332	3-methylorobol-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-malonát
12	20,49	549	301	261,286,338	pratensein-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-malonát
13	22,70	517	269	250,298	isoformononetin-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-malonát)
14	23,20	255		250,302	daidzein
15	24,30	461	299	270,339	irilon-4’-*O*-β-D-glukosid
16	24,60	531	283	249,293	pseudobaptigenin-7-*O*-β-D-glukosid-6 ”-*O*-malonát
17	24,75	285		258,288	glycitein
18	26,50	517	269	250,298	formononetin-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*OD* -malonát
19	26,80	461	299		afrormosin-7-*O*-β-D-glukosid
20	29,40	447	285	260,326	sissotrin (biochanin A-7-*O*-β-D-glukosid)
21	29,60	463	301	262,288,320	irilin B (5,7,2’-trihydroxy-6-methoxyisoflavon-7-*O*-β-D--glukosid)
22	30,10	547	299	271,340	irilon-4’-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-malonát
23	32,85	447	285	260,324	trifosid (prunetin-4’-*O*-β-D-glukosid)
24	33,02	547	299	270,337	afrormosin-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-malonát
25	36,10	533	285	260,326	texasin-7-*O*-β-D-glukosid-6”-*O*-malonát

Tabulka II – pokračování

Pík	t_r [min]	$[M+H]^+$ [*m/z*]	Fragment [*m/z*]	λ_{max} [nm]	Identifikované isoflavony
26	36,30	549	301	262,287,320	irilin B (5,7,2'-trihydroxy-6-methoxyisoflavon-7-*O*-β-D--glukosid-6"-*O*-malonát)
27	36,68	301		264,334	3-methylorobol
28	39,28	271		260,330	genistein
29	39,60	533	285	260,326	biochanin A-7-*O*-β-D-glukosid-6"-*O*-malonát
30	40,92	301		262,284,334	pratensein
31	41,20	533	285	260,325	trifosid (prunetin-4'-*O*-β-D-glukosid-6"-*O*-malonát)
32	43,20	283		249,296	pseudobaptigenin
33	45,37	269		249,302	formononetin
34	49,70	285		261,325	texasin
35	50,17	489	285	260,325	biochanin A-7-*O*-β-D-glukosid-6"-*O*-acetát
36	60,70	285		261,326	biochanin A

techniky patří spektrofotometrické metody v ultrafialové a viditelné (UV/VIS) nebo infračervené oblasti (IR), hmotnostní spektrometrie a nukleární magnetická resonance (^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR). On-line techniky zahrnují GC, HPLC a CE ve spojení s detektorem s diodovým polem (UV/VIS DAD) nebo detekcí pomocí hmotnostní spektrometrie HPLC/MS, HPLC/MS/MS, GC/MS, CE/MS a v neposlední řadě i kombinace kapalinové chromatografie s nukleární magnetickou resonancí HPLC/NMR (cit.[9–13]).

Vyřešení konstrukce potřebných rozhraní pro spojení těchto technik a zavedení nových ionizačních metod, jako jsou elektrosprej (ESI) a chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI), umožnilo provádění rutinních analýz biologických materiálů. Jednou z dalších výhod je možnost provádět aktivaci iontů přímo v iontovém zdroji. Možnost interpretace takto získaných kolizních spekter jednotlivých isoflavonů umožňuje upřesnit další strukturní informace o sledovaných metabolitech.

3. Extrakce a izolace isoflavonů

Výše uvedené techniky však vyžadují dokonalou předběžnou separaci jednotlivých skupin metabolitů, neboť klasické izolační postupy jsou značně neselektivní. Zvláště vysoké nároky jsou kladeny na zjednodušení matrice vzorků u biologických materiálů rostlinného původu. Postupy pro extrakci a izolaci isoflavonoidů lze rozdělit do několika skupin: *1*) extrakce kapalinou, *2*) kyselá hydrolýza, *3*) enzymatická hydrolýza, *4*) extrakce na tuhé fázi (SPE) a *5*) extrakce kapalinou (oxidem uhličitým) v nadkritickém stavu (SFE).

Při extrakci isoflavonoidů polární kapalinou z dokonale homogenizovaných vzorků se používá methanol, ethanol nebo acetonitril, popř. jejich vodné roztoky. V některých případech se taktéž používá dichlormethan. Doba extrakce se v závislosti na použité extrakční kapalině a druhu vzorku pohybuje od jednotek hodin až po několik dní. Doba a účinnost extrakce závisí především na zvoleném postupu, teplotě a způsobu a intenzitě třepání. Metody bývají málo selektivní a vykazují poměrně nízkou účinnost.

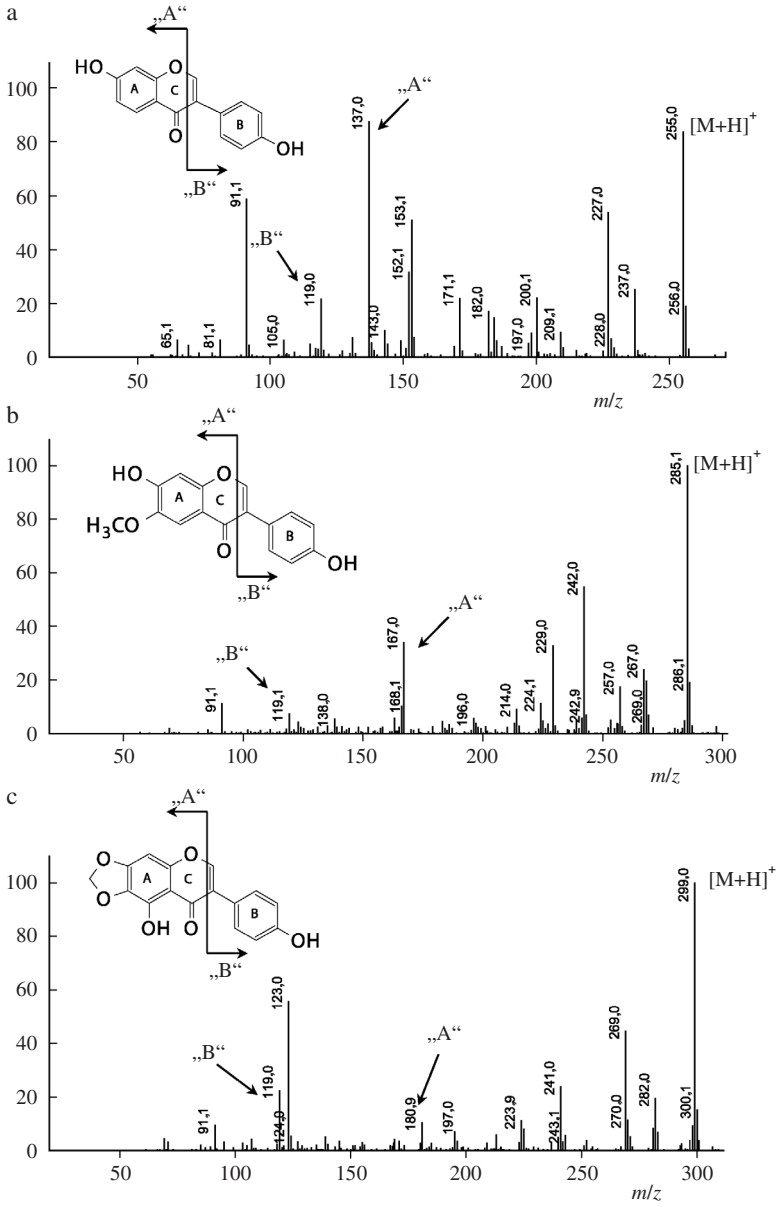
Postupy založené na kyselé hydrolýze využívají pro extrakci vodné roztoky organických rozpouštědel (methanol, acetonitril a ethanol) s přídavkem kyseliny chlorovodíkové. Účinnost je závislá především na koncentraci kyseliny chlorovodíkové, době extrakce a koncentraci rozpouštědla[14,15]. Přídavek kyseliny chlorovodíkové vede ke zvýšení extrakční účinnosti, přičemž selektivita zůstává zhruba zachována.

Enzymatické hydrolýze předchází extrakce homogenizovaného vzorku 96% ethanolem. Po dokonalém odpaření pod vakuem následuje digesce acetátovým pufrem obsahujícím β-glukosidasu a β-glukoronidasu/sulfatasu, inkubace a centrifugace. Enzymatická hydrolýza je mnohem šetrnější a vyznačuje se zlepšenou selektivitou v porovnání s předchozími postupy.

Při extrakci na tuhé fázi bývá v prvním kroku provedena digesce rozpouštědlem. Potom je extrakt vzorku nanesen na vhodný sorbent. K nejpoužívanějším sorbentům patří, vedle modifikovaného silikagelu C18, především polymerní sorbenty na bázi kopolymeru *N*-vinylpyrrolidonu a divinylbenzenu a kopolymeru styren-divinylbenzen (PS-DVB) (cit.[16–23]). Limitujícím faktorem pro využití sorbentů na bázi alkylovaného silikagelu (např. C18) je jejich nedostatečná retence polárních analytů, což může způsobit nízkou návratnost analytu. Při aplikaci vzorku na sorbent může docházet ke ztrátám analytu jeho průnikem do odpadu.

Řadu těchto limitujících faktorů eliminují sorbenty na bázi kopolymeru styren-divinylbenzen (PS-DVB). Zaručují stabilitu sorbentu v širokém rozsahu pH, zvyšují použitelnost pro širokou škálu analytů[24–25] a vykazují vyšší retenci polárních analytů. Jejich částečnou nevýhodou je poněkud nižší hydrofobní charakter, který způsobuje horší smáčivost.

Tento nedostatek odstraňují hydrofilně-lipofilní kopolymery na bázi *N*-vinylpyrrolidonu a divinylbenzenu. Hydrofilní charakter *N*-vinylpyrrolidonu zvyšuje smáčivost kopolymeru a naopak lipofilní charakter divinylbenzenu zvyšuje retenci reverzní fáze potřebnou k záchytu analytů. Přítomnost *N*-vinylpyrrolidonu umožňuje aplikaci vzorku přímo na sorbent bez kondicionačních kroků. Tyto vlastnosti zvýhodňují polymerní sorbenty před klasickými sorbenty na bázi silikagelu, kde kondicionační krok může být kritickým místem extrakce.



Obr. 3. **RDA fragmentace daidzeinu (a), glyciteinu (b) a irilonu (c)**

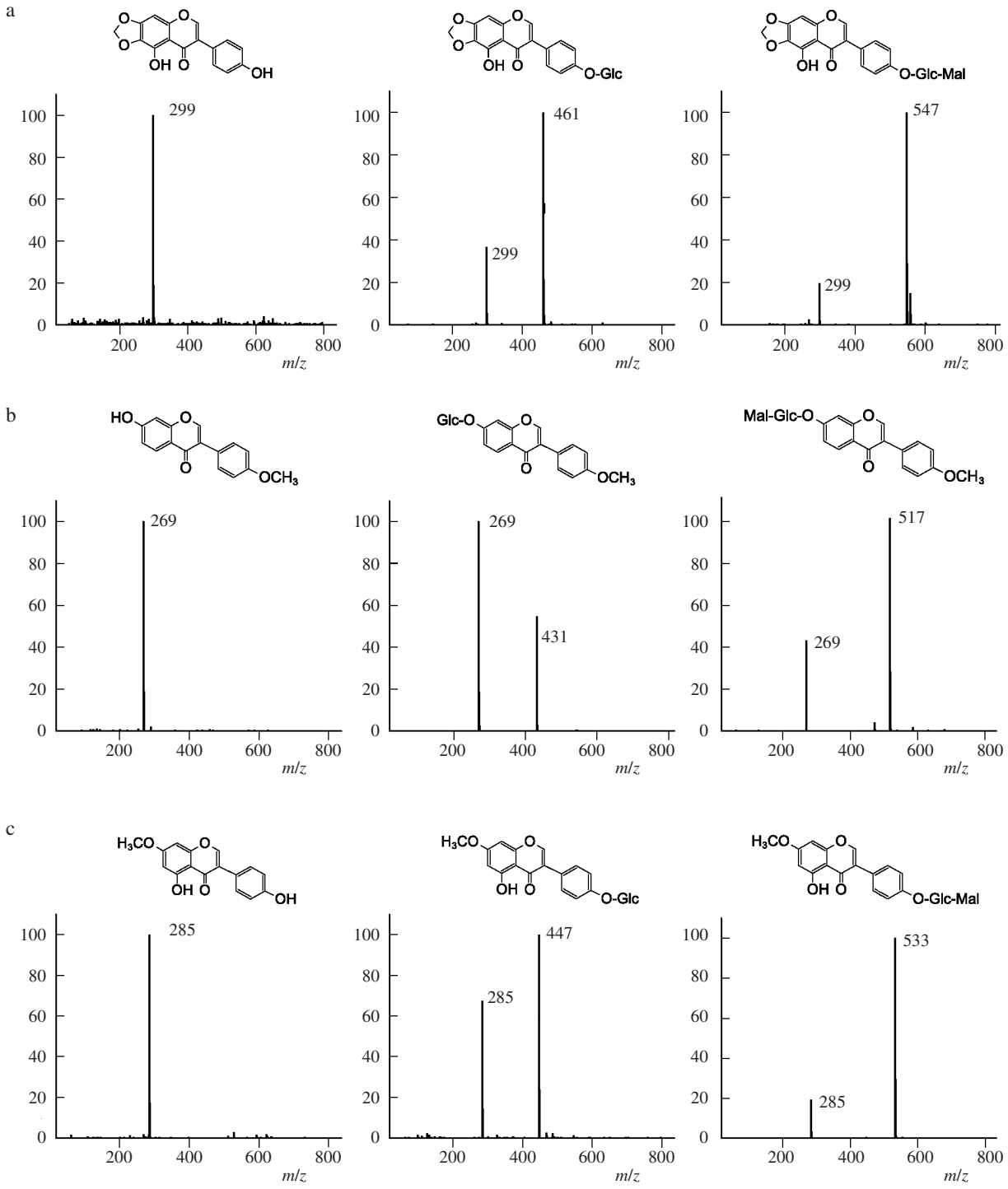
Všechny výše uvedené postupy jsou vesměs vhodným doplňkem ke klasickým postupům izolace, neboť vlivem vysoké selektivity separace dochází k výraznému zjednodušení následného separačního kroku. Komplikovanější příprava vzorku vede vesměs ke snížení počtu balastních látek, avšak je provázena i určitými ztrátami některých složek a vyšší časovou náročností. Výběru sorbentu i rozpouštědel je tedy nutno věnovat velkou péči.

V ojedinělých případech byla použita extrakce kapalinou v nadkritickém stavu (SFE) s použitím oxidu uhličitého[26]. Při extrakci glykosidů isoflavonů nebyla SFE příliš úspěšná, avšak pro stanovení aglykonů isoflavonů se uplatnila s poměrně dobrými výsledky. Použití modifikátorů (methanol, acetonitril aj.) může v řadě případů zvýšit účinnost i selektivitu SFE.

4. Detekce a identifikace isoflavonů

Pro stanovení isoflavonů jsou nejčastěji používány chromatografické a elektromigrační metody. Při HPLC separacích se nejčastěji používá uspořádání s reverzní fází na alkylovaných silikagelech C18 popř. C8. Separace se provádí pomocí izokratické nebo gradientové eluce mobilní fáze, kterou tvoří směs methanolu, acetonitrilu, propan-1-olu, tetrahydrofuranu nebo ethanolu s vhodnými tlumiči (kyselina octová, mravenčí nebo trifluoroctová, octan amonný nebo fosfátový pufr). Jednotlivé látky se detegují převážně spektrofotometricky v UV oblasti (254–280 nm).

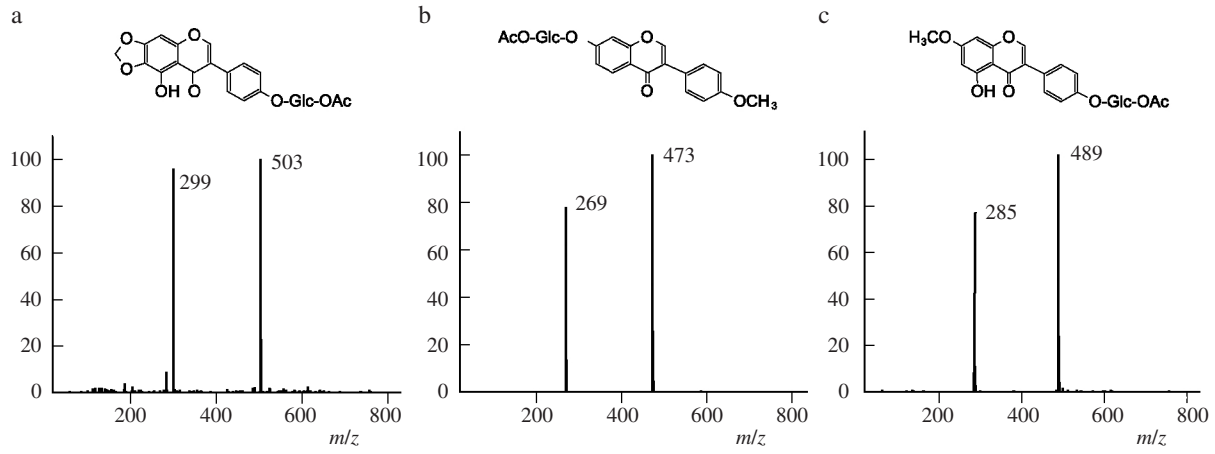
Sledované analyty lze s omezenou pravděpodobností identifikovat na základě jejich retenčních časů nebo metodou přídavku interního standardu. Pro zvýšení informační hodnoty



Obr. 4. **MS spektra aglykonu, glukosidu a malonátu glukosidu irilonu (a), formononetinu (b) a prunetinu (c) (cit.[22])**

výsledků se v současnosti s výhodou využívá kombinace porovnání retenčních časů se současným porovnáním UV/VIS DAD absorpčních spekter měřených látek se spektry uloženými v knihovně spekter standardních látek s použitím faktorů shody (match factor). Tyto spektrální knihovny musí být uživatelem vytvořeny za přesně definovaných separačních podmínek (stejná mobilní fáze, průtok, typ chromatografického čerpadla, kolona a teplota) a nelze využívat komerčně nabízené spektrální knihovny.

Faktor shody (match factor, číselná hodnota od 1 do 1000)



Obr. 5. **MS spektra acetátu glukosidu irilonu (a) , formononetinu (b) a prunetinu (c) (cit.[22])**

vznikne matematickým porovnáním spektrální křivky standardu se spektrální křivkou sledované sloučeniny. U hodnot vyšších než 996 můžeme hovořit s velkou pravděpodobností o identitě sloučenin. Tento fakt je však nutno potvrdit ještě alespoň jedním nezávislým údajem (například shodou retenčních časů), neboť řada isoflavonů má velmi podobná spektra (viz např. spektra pro daidzein a formononetin, genistein a biochanin A (cit.[22]) na obr. 1).

Téměř identická spektra vykazují navíc i aglykon, glykosid, acetátglykosid a malonátglykosid. Zde pak platí pravidlo pořadí eluce dle retenčních časů malonátglykosid < glykosid < acetátglykosid < aglykon, které lze v řadě případů použít jako pomocné kritérium při identifikaci píků. Spektra isoflavonů jsou zpravidla zcela odlišná od jejich flavonových analogů[27], jak ukazují například spektra[22] pro genistein a apigenin na obr. 2. Spektrální charakteristiky v UV/VIS oblasti spektra (viz tabulka II) jsou velmi užitečným prostředkem při identifikaci jednotlivých isoflavonů, ale často ani ony nejsou jednoznačným kritériem.

Ve sporných případech je pak velmi účinným nástrojem při identifikaci tandem HPLC-DAD/MS. Vývoj těchto technik byl v minulosti závislý na vyřešení vhodných rozhraní mezi kapalinovým chromatografem a hmotnostním spektrometrem. Vysokoúčinná kapalinová chromatografie pracuje s vysokými průtoky mobilních fází, vysokým tlakem a nízkou teplotou v kontrastu s hmotnostní spektrometrií, která používá nízký průtok, vysoké vakuum a plynnou fázi při vysokých teplotách.

Nástup nových ionizačních technik, jako jsou elektrosprej (ESI) a chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI), umožnily rutinní propojení HPLC s hmotnostní spektrometrií (HPLC/MS) v širokém rozsahu průtokových rychlostí mobilní fáze (od $\mu l.min^{-1}$ až po $ml.min^{-1}$). Možnost provádět aktivaci iontů přímo v iontovém zdroji dovoluje získávat kolizní spektra, která poskytují další detailní strukturní informace o jednotlivých isoflavonech (cit.[22], obr. 3).

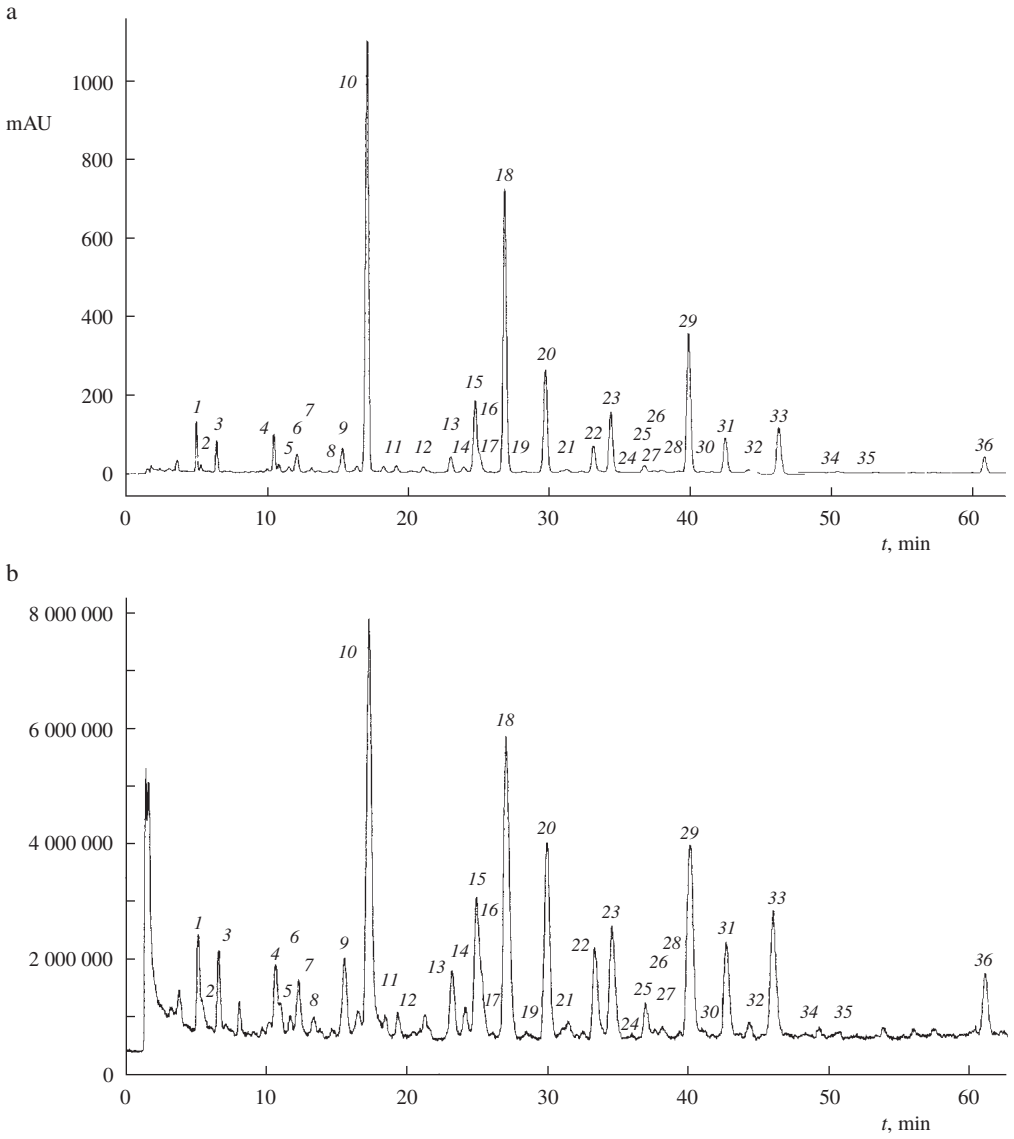
Na základě retro-Diels-Alderovy fragmentace (RDA) lze s určitou přesností určit substituci fragmentů u isoflavonů na fragmentu kruhu A a substituci na fragmentu kruhu B (viz příklady[22] na obr. 4 a 5). Z těchto informací lze potvrdit, popřípadě navrhnout, pravděpodobnou strukturu příslušného metabolitu. Intenzita fragmentace závisí na intenzitě kolizního napětí (CID), použitém složení mobilní fáze (kyselina octová, kyselina mravenčí, acetát, atd.), koncentraci složek mobilní fáze, typu organického modifikátoru v iontovém zdroji a v neposlední řadě především na chemické struktuře sledovaného metabolitu. Tandemy HPLC/ESI-MS a HPLC/APCI-MS tak patří k velmi užitečným nástrojům k identifikaci a následně i ke stanovení nových isoflavonů v biologických materiálech[22,28–40].

Pro identifikaci a stanovení isoflavonů v rostlinných materiálech (soja, traviny aj.) byla použita celá řada různých spojení HPLC/MS, jak v ESI módu, tak i v pozitivním i negativním APCI módu. Předností spojení HPLC/ESI-MS je šetrnější ionizace termolabilních konjugátů. Barnes a spol.[33] a Rijke a spol.[40] použili pro stanovení isoflavonů a jejich malonátů u leguminos chemické ionizace za atmosférického tlaku (APCI). Limitujícím faktorem při použití APCI módu pro identifikaci malonátových a acetátových glykosidů je jejich malá termická stabilita. Wang a Sporns[38] demonstrovali použití systému MALDI-TOF MS pro stanovení glykosidů daidzinu a genistinu v produktech ze soji. Přednosti uplatnění kombinace HPLC/MS při stanovení a identifikaci isoflavonů v *Trifolium pratense* demonstrují i naše výsledky[22].

Jednotlivé analyty (viz tabulka II k obr. 6) byly identifikovány na základě jejich retenčních časů a porovnání absorpčních a hmotnostních spekter se spektry v uživatelské knihovně. U všech námi identifikovaných sloučenin byly faktory shody větší než 995, přičemž z celkového počtu asi 50 identifikovaných sloučenin byla u několika z nich jejich přítomnost v jetelovinách potvrzena v literatuře poprvé[22].

5. Závěr

Biosyntetické dráhy flavonoidů patří k jedněm z nejsledovanějších metabolických systémů v rostlinách. Isoflavonoidy tvoří významnou podskupinu flavonoidů. Vyskytují se jako látky konstituční nebo se objevují jako následek působení stresu či za obou okolností. Isoflavony plní určité funkce v obranném systému rostliny jako přirozená ochrana proti infekci, při klíčení semen, napadení hmyzem a poškození škůdci. Tyto látky mohou po určitou dobu udržovat svoji biologickou aktivitu a ovlivňovat mikrobiální poměry v půdě.



Obr. 6. **UV (a) a TIC (b) chromatogramy analýzy extraktu *Trifolium pratense*[22]**

V rostlinách se tyto látky vyskytují převážně jako maloná-ty a acetáty glykosidů. V menší míře jsou přítomny ve formě svých aglykonů. Isoflavony jsou v rostlinné říši zastoupeny v omezeném počtu čeledí jako jsou *Fabaceae* a *Viciaceae*. V minoritních formách se vyskytují i v řadě dalších čeledí. Souvislosti mezi biosyntetickými návaznostmi flavonů a isoflavonů potvrzuje přítomnost isoflavonsynthasy a minoritních koncentrací příslušných isoflavonů i ve zcela netypických čeledích. Tyto skutečnosti dokazují přítomnost metabolické dráhy, která k těmto metabolitům vede (viz schéma A).

Diskutovány jsou možnosti použití extrakčních a separačních technik pro izolaci a identifikaci isoflavonů v biologických materiálech a jsou navrženy způsoby identifikace na základě UV a MS spekter. Kombinace HPLC/ESI/MS a HPLC/APCI/MS umožňují identifikaci s vyšší pravděpodobností než systémy HPLC/UV-DAD.

Na základě kolizních spekter lze navrhnout pravděpodobnou strukturu sledovaných analytů. Tandemy HPLC-ESI-MS a HPLC-APCI-MS se tak stávají nedílnou součástí instrumentace při studiu metabolických dějů, identifikaci nových sloučenin v rostlinné říši, ale i v řadě dalších vědních oborů jako jsou chemie, biochemie, mikrobiologie, ekologie, farmacie a medicína. Další pokrok při jednoznačné identifikaci přírodních látek přinese s velkou pravděpodobností aplikace dalších spektrálních metod (IR, NMR aj.) v kombinaci s chromatografickými nebo elektromigračními technikami.

Tato práce vznikla za finanční podpory grantu MŠMT ČR č. 432100001 a grantu GA ČR č. 521/99/0863.

LITERATURA

1. Jung W., Yu O., Lau S.-M. C., O'Keefe D. P., Odell J., Fader G., McGonile B.: Nat. Biotechnol. *18*, 208 (2000).

2. He X-Z., Dixon R. A.: Plant Cell *12*, 1689 (2000).
3. Dixon R. A., v knize: *Comprehensive Natural Products Chemistry* (Sankawa U., ed.), sv. I, str. 773. Elsevier, Amsterodam 1999.
4. Shirley B. W.: Seed Sci. Res. *8*, 415 (1998).
5. Bruneton J.: *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*. Lavoisier, Paris 1996.
6. Williams C. A., Harborne J. B., v knize: *Methods in Plant Biochemistry* (Dey P. M., Harborne J. B., ed.), sv. I. Academic Press, London 1989.
7. Cassidy A., Bingham S., Setchell K. D. R.: Am. J. Clin. Nutr. *60*, 333 (1994).
8. Ingram D., Sandres K., Kolybaba M., Lopez D.: Lancet *350*, 990 (1997).
9. He X-G.: J. Chromatogr., A *880*, 203 (2000).
10. Stobiecki M.: Phytochemistry *54*, 237 (2000).
11. Hostettman K., Wolfender J. L., Rodriguez S.: Planta Med. *63*, 2 (1997).
12. Barnes S., Kirk M., Coward L.: J. Agric. Food Chem. *42*, 2466 (1994).
13. Aramendia M. A., García I., Lafont F., Marinas J. M.: J. Chromatogr., A *707*, 327 (1995).
14. Franke A. A., Custer L. J., Cerna C. M., Narala K. K.: J. Agric. Food Chem. *42*, 1905 (1994).
15. Peterson H., Kiessling K. H.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. *67*, 503 (1984).
16. Bouvier E. S. P., Martin D. M., Iraneta P. C., Capparella M., Cheng Y-F., Phillips D. J.: LC-GC *15*, 152 (1997).
17. Cheng Y-F., Neue U. D., Bean L.: J. Chromatogr., A *828*, 273 (1998).
18. Cheng Y-F., Phillips D. J., Neue U. D., Bean L. L.: J. Liq. Chromatogr. *20*, 2461 (1997).
19. Klejdus B., Vitamvásová D., Kubáň V.: J. Chromatogr., A *839*, 261 (1999).
20. Klejdus B., Kubáň V.: Phytochem. Anal. 11, 375 (2000).
21. Klejdus B., Třináctý J., Hrdlička P., Kubáň V.: Chem. Pap. *55*, 285 (2001).
22. Klejdus B., Vitamvásová D., Kubáň V.: Anal. Chim. Acta 450, 81 (2001).
23. Fritz J. S., Macka M.: J. Chromatogr., A *902*, 137 (2000).
24. Neue U. D.: Am. Lab. *1997* (2), 334.
25. Bolliet D., Poole C. F.: Chromatographia *46*, 381 (1997).
26. Verotta L., Peterlongo F.: Phytochem. Anal. *4*, 178 (1993).
27. Mabry T. J., Markham K. R., Thomas M. B., v knize: *The Systematic Identification of Flavonoids* (Mabry A. Y., Markham K. R., Thomas M. B., ed.), kap. 5 a 6. Springer-Verlag, New York 1970.
28. Balogh M. P.: LC-GC *15*, 456 (1997).
29. Wolfender J. L., Rodriguez S., Hostettmann K., Wagner-Redeker W.: J. Mass Spectrom. Soc. Jpn. S35–S46 (1995).
30. He X-G., Lin L-Z., Lian L-Z.: J. Chromatogr., A *755*, 127 (1996).
31. Stobiecki M., Malosse C., Kerhoas L., Wojtaszek P., Einhorn J.: Phytochem. Anal. *10*, 198 (1999).
32. Summer L. W., Paiva N. L., Dixon R. A., Geno P. W.: J. Mass Spectrom. Soc. Jpn. *31*, 472 (1996).
33. Barnes S., Coward L., Kirk M., Sfakianos J.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *217*, 254 (1998).
34. Lin L-Z., He X-G., Lindenmaier M., Nolan G., Yang J., Cleary M., Qiu S-X., Cordell G. A.: J. Chromatogr., A *876*, 87 (2000).
35. Lin L-Z., He X-G., Lindenmaier M., Yang J., Cleary M., Qiu S-X., Cordell G. A.: J. Agric. Food Chem. *48*, 354 (2000).
36. Satterfield M., Black D. M., Brodbelt J. S.: J. Chromatogr., B *759*, 33 (2001).
37. Griffith A. P., Collison M. W.: J. Chromatogr., A *913*, 397 (2001).
38. Wang J., Sporns P.: J. Agric. Food Chem. *48*, 5887 (2000).
39. Choi Y. S., Row K. H.: J. Liq. Chromatogr. *23*, 1671 (2000).
40. de Rijke E., Zafra-Gómez A., Ariese F., Brinkman U. A. T., Gooijer C.: J. Chromatogr., A *932*, 55 (2001).

B. Klejdus, D. Štěrbová, P. Stratil, and V. Kubáň *(Department of Chemistry and Biochemistry, Mendel University of Agriculture and Forestry, Brno):* **Identification and Characterization of Isoflavones in Plant Material by HPLC--DAD-MS Tandem**

Advantages and disadvantages of combined extraction and separation techniques for isolation of secondary metabolites in plant materials are discussed. The number of identified substances in crude extracts is often reduced due to co-elution of two or more compounds. Purification procedures are necessary for more detailed studies due to interference of other substances. Solid-phase extraction (SPE) is the most useful extraction procedure. Its advantages in the purification, especially for more precise identification of isoflavones, are presented. Application of HPLC-DAD-MS tandem to identification and structure characterization of isoflavones in plant materials is described. The presence of six isoflavone glycoside acetates and of eight malonates in *Trifolium pratense* was confirmed by HPLC-MS. Biosynthesis of flavonoids is described. Combination of SPE and HPLC-DAD-MS techniques improves the procedures and allows more precise identification of secondary metabolites due to reduced interferences and co-elution of other compounds. Application of SPE leads to simpler chromatograms but the sensitivity is sacrificed.

PŘÍRODNÍ LÁTKY V PREVENCI ONEMOCNĚNÍ TRÁVICÍHO TRAKTU

MARTIN MODRIANSKÝ[a], KATEŘINA VALENTOVÁ[a], VĚRA PŘIKRYLOVÁ[b] a DANIELA WALTEROVÁ[a]

[a]Ústav lékařské chemie a biochemie, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého, Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc, [b]Laboratoř biotransformací, Mikrobiologický ústav, Akademie věd České republiky, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4
e-mail: oregon@tunw.upol.cz

Došlo 8.4.03, přepracováno 6.5.03, přijato 12.5.03.

Klíčová slova: funkční potravina, potravní doplněk, fytochemikálie, prebiotikum, probiotikum, biologická aktivita, trávicí trakt

Obsah

1. Úvod
2. Fytochemikálie v trávicím traktu savců
3. Polyfenolové látky
4. Fytosteroly
5. Oligo- a polysacharidy s β-glykosidovou vazbou
6. Závěr

1. Úvod

Složení potravy hraje důležitou úlohu v předcházení vzniku nádorových, kardiovaskulárních a chronických metabolických onemocnění. Vhodným složením denní stravy, zvýšeným podílem ovoce, zeleniny, luštěnin a obilovin, lze výrazně pozitivně ovlivňovat metabolické procesy v trávicím traktu (GIT) člověka[1]. Funkční změny sliznic a složení střevní bakteriální flóry, vyvolané dlouhodobě nevhodným složením diety, mohou být prvotními příčinami zánětlivých a nádorových onemocnění žaludku, duodena, střev a průjmových onemocnění nebakteriálního původu[2]. Potraviny a jejich složky, které mají pozitivní fyziologické účinky na lidský organismus, se v odborné literatuře označují jako nutraceutika a dělí se na funkční potraviny a potravní doplňky[3]. Legislativa ČR a EU rozlišuje potraviny pro zvláštní účely a potravní doplňky[4,5]. Funkční potravina (FP), např. některé druhy ovoce a zeleniny, je produkt s nutriční hodnotou, který je bezpečný a má příznivý účinek na jednu nebo více fyziologických funkcí. Potravními doplňky (PD) jsou *i*) látky se známou nutriční funkcí jako např. vitaminy, minerální látky, aminokyseliny a esenciální polynenasycené mastné kyseliny, *ii*) látky s prokázaným pozitivním fyziologickým účinkem jako např. rostlinné polyfenolové látky, glukosamin, karnitin, koenzym Q_{10}, melatonin, ornithin s α-ketoglutarovou kyselinou, pyruvát, taurin, živočišné proteoglykany a *iii*) léčivé rostliny v intaktní formě, jejich celkové nebo frakcionované extrakty, které jsou chemicky charakterizované a standardizované na určitou skupinu látek, jako např. komplex flavonolignanů ze semen *Sylibum marianum* nazývaný silymarin či extrakt z pšeničných klíčků standardizovaný na obsah substituovaných benzochinonů. FP a PD mají vliv na celkový zdravotní stav a mohou významně podporovat fyzický výkon či snižovat riziko vzniku některých nemocí. Za prokazatelný fyziologický účinek je u FP/PD zpravidla odpovědná určitá skupina látek – fytochemikálií. Jsou to fenolové kyseliny, lignany, flavonoidy, anthokyany, proanthokyanidiny, fytosteroly, karotenoidy, polynenasycené mastné kyseliny, glukosinoláty, oligo- a polysacharidy s β-glykosidovou vazbou a další komponenty.

V tomto článku je podán přehled současných poznatků o účincích tří biologicky aktivních skupin přírodních látek na funkci trávicího traktu u savců. Jedná se o *i*) polyfenolové látky – lignany, flavonoidy a flavonolignany, *ii*) fytosteroly a *iii*) nehydrolyzovatelné β-poly- a oligosacharidy.

2. Fytochemikálie v trávicím traktu savců

K prvnímu kontaktu člověka s fytochemikálií obsaženou v dietě dochází v trávicím traktu, kde se uplatňuje její pleiotropní účinek, zejména chemoprotektivní. Četné práce dokumentují snížený výskyt zánětlivých a nádorových onemocnění GIT u populací konzumujících rostlinnou stravu bohatou na polynenasycené mastné kyseliny, polyfenolové látky (především flavonoidy), fytosteroly a nestravitelnou vlákninu[6,7]. Za farmakologicky věrohodně prokázanou lze považovat např. účinnost přípravků obsahujících oleje bohaté na ω-3 polynenasycené kyseliny u ulcerativní kolitidy (chronický zánět sliznice tlustého střeva), která byla potvrzena v několika klinických studiích[8]. Pro nutraceutika, jejichž fyziologický účinek je lokalizován na tlusté střevo, je užíván název prebiotika[9]. Jsou tak označovány nestravitelné součásti potravy, které příznivě ovlivňují hostitele selektivní stimulací růstu/aktivity jednoho nebo omezeného počtu bakteriálních kmenů v tlustém střevě. Patří k nim fytochemikálie, označované jako vláknina potravy, kam jsou řazeny celulosa, kondenzované tanniny (polymery tvořené molekulami katechinu), ligniny (polymery tvořené molekulami *p*-kumaryl-, koniferyl- a sinapylalkoholu) a polysacharidy necelulosového charakteru, např. hemicelulosy, pektiny a fruktany. Tyto substance nejsou hydrolyzovány a tráveny v žaludku, duodenu a tenkém střevě hostitele, ale k jejich fermentaci dochází v tlustém střevě působením bakteriální mikroflóry. Bakterie působí v intestinálním traktu hostitele několika mechanismy: metabolizují vlákninu na krátké (C2 až C4) mastné kyseliny, podporují sekreci trávicích enzymů, modulují metabolismus lipidů, stimulují peristaltiku a aktivují imunitní systém hostitele, tvoří bariéru proti patogenním mikroorganismům, antigenům a toxickým sloučeninám z lumen střeva, ovlivňují proliferaci a diferenciaci epiteliálních buněk, absorpci látek v hladkém střevě, enterohepatální oběh žlučových kyselin, podílí se na imunitní ochraně organismu, jsou nezbytné pro aktivaci mukózní imunity a imunokompetentních buněk a fermentaci nestravitelných

složek potravy[10,11]. Prebiotika selektivně stimulují růst lidskému organismu prospěšných druhů bakterií, především *Bifidobacterium* a *Lactobacillus*. Pokud některé druhy těchto kmenů jsou složkami funkčních potravin, pak jsou označovány jako probiotika.

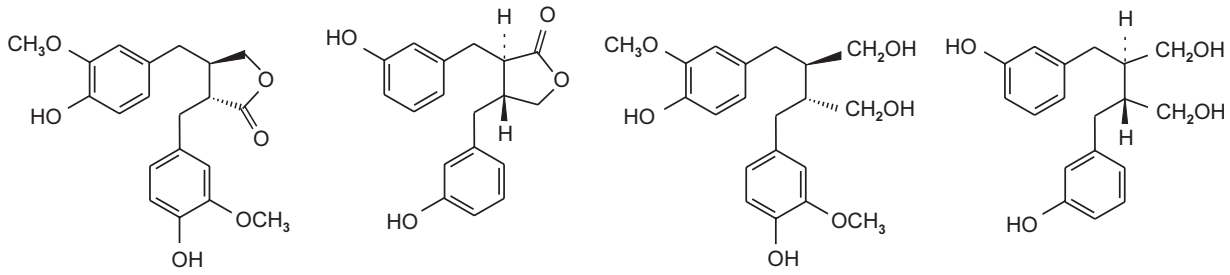
3. Polyfenolové látky

Polyfenolové látky (PFL), kam náleží C6–C1 a C6–C3 fenolové kyseliny, stilbeny, lignany, flavonoidy (flavony/flavonoly, dihydroflavony/dihydroflavonoly, katechiny/flavanoly, anthokyany, isoflavony a chalkony), flavonolignany, ligniny a proanthokyanidiny (kondenzované tanniny), jsou nejrozsáhlejší skupinou sekundárních metabolitů rostlin[12]. V denní dietě (Evropa a USA) je příjem PFL, vyjádřený jako množství flavonoidglykosidů, cca 1 g na den (cit.[13]). PFL mají široké spektrum fyziologicky příznivých účinků, zejména jsou známy jako antioxidanty[14]. Jsou aktivními složkami funkčních potravin (např. cibule, citrusové plody, hrozny, zelený čaj), potravních doplňků (např. extrakt z listů *Ginkgo biloba*) a některých volně prodávaných léků (např. Flavobion®). V dalším textu bude věnována pozornost jen těm skupinám PFL, u kterých byl prokázán jejich fyziologický účinek již v GIT. Jsou to lignany, některé flavonoidy a flavonolignany.

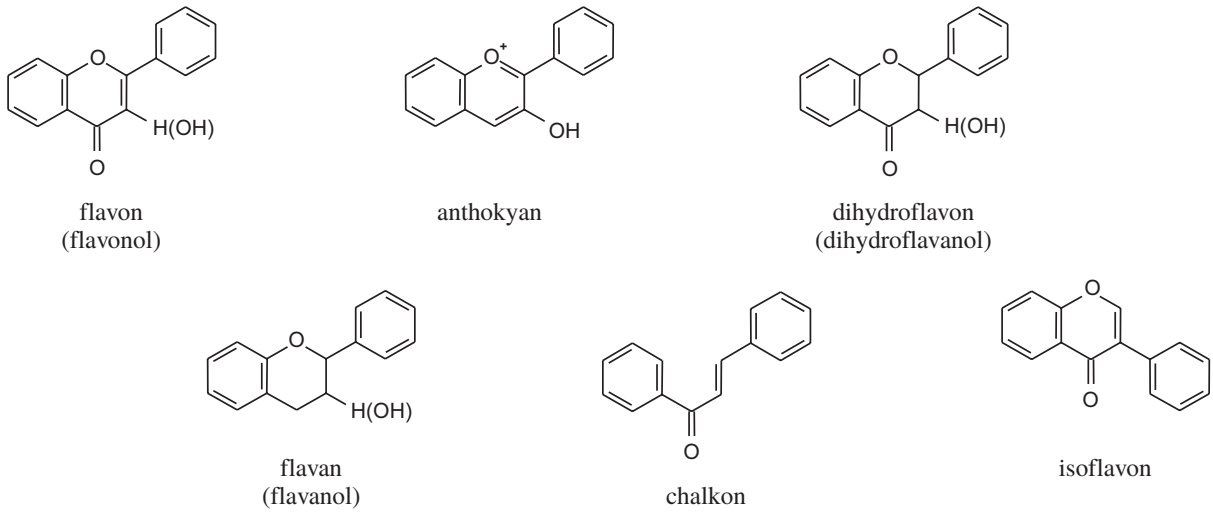
V ý s k y t a s t r u k t u r a

Nejbohatším zdrojem lignanů jsou semena lnu setého (*Linum usitatissimum*). Jejich prekurzory jsou fenylalanin a C6–C3 fenolové kyseliny. Molekula lignanu je tvořena dvěmi fenylpropanovými jednotkami spojenými přes centrální uhlíky (C-8 a C-8') postranních propanových řetězců. Existuje několik skupin, lišících se spojením těchto jednotek a oxidačním stupněm. Jednotlivé deriváty se liší počtem a polohou hydroxyskupin, které mohou být methylovány, acylovány nebo glykosylovány (obr. 1).

Flavonoidy jsou rozšířeny ve všech rostlinách, kde mají důležité postavení v metabolismu a fyziologických funkcích. Izolovány jsou jako glykosidy/aglykony. Jejich prekurzory jsou chalkony, které vznikají kondenzací *p*-kumaroyl-CoA a tří molekul malonyl-CoA. Základní skelet flavonoidů je tvořen dvěma benzenovými jádry spojenými heterocyklickým kruhem – pyranem/pyronem (obr. 2). 2-Fenylchroman (flavan) může být modifikován oxidací (přítomnost další dvojné vazby), redukcí karbonylu, ionizací heterocyklického kyslíku nebo isomerizací na 3-fenylchroman. Poslední skupinou PFL



Obr. 1. **Lignany a jejich „živočišné“ metabolity**



Obr. 2. **Základní strukturní typy flavonoidů**

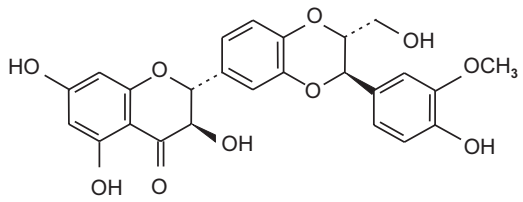
jsou flavonolignany (obr. 3). Jejich základní skelet je fenylchromanon (flavonoidní komponenta) spojený s molekulou koniferylalkoholu (lignanová komponenta).

Metody stanovení

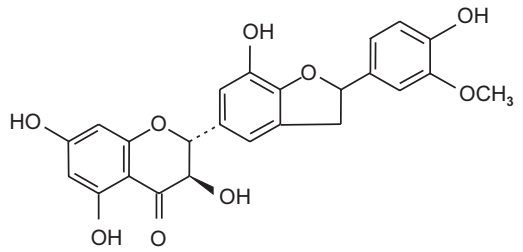
V rostlinném materiálu se PFL stanovují jako celkové fenoly reakcí s Folin-Ciocalteuovým činidlem[15]. Další metody zahrnují HPLC na reverzní fázi s UV-VIS detekcí při 280 nm (cit.[16]), MS (cit.[17]), coulometrickou[18] či amperometrickou detekcí[19]. Dále se pro stanovení s úspěchem využívá kapilární elektroforézy[20,21] a TLC (cit.[22]). Souborně o stanovení PFL pojednává cit.[23]

Účinky v trávicím traktu a jejich mechanismus

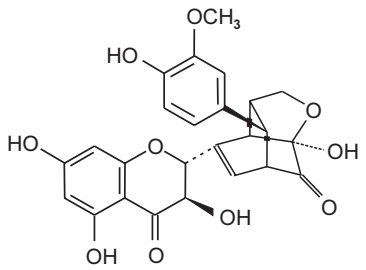
Pro GIT člověka jsou významné lignany sekoisolariciresinol a matairesinol, které jsou gastrointestinálními bakteriemi transformovány na „živočišné" fytoestrogeny enterodiol a enterolakton. Ty se absorbují v tenkém střevě a do GIT se vrací ve formě glukuronidů[24,25]. V GIT působí jako antioxidanty, modulátory proliferace a apoptosy buněk střevního epitelu a interagují s vazebným místem estrogenního receptoru typu II. Flavonoidy jsou v rostlinách přítomny převážně jako glykosidy, které jsou tepelně stabilní. Glykosylované flavonoidy jsou hydrolyzovány v tenkém střevě dvěma β-glukosidasami (laktasou-florizinhydrolasou a cytosolickou β-glukosidasou) (cit.[26,27]). V aktivitě glykosidas jsou u jednotlivců výrazné rozdíly, které jsou určující pro biodostupnost flavonoidů[27]. Flavonoidy jsou z GIT absorbovány buď jako intaktní glykosidy nebo aglykony[7,28]. Většina glykosidů je hydrolyzována bakteriálními enzymy v tlustém střevě (β-glukosidasa, β-glukuronidasa, β-rhamnosidasa) na aglykony[29,30]. Konečnými metabolity bakteriální konverze flavonů, flavonolů a flavanolů jsou kyseliny 3,4-dihydroxyfenyloctová, 3-hydroxyfenyloctová, 3-hydroxyfenylpropanová a hippurová kyselina, vznikající po štěpení heterocyklického kruhu[7]. Jejich předpokládaný příznivý účinek na epitel tlustého střeva nebyl však experimentálně potvrzen. Katechiny a kondenzované tanniny se téměř neabsorbují, jsou metabolizovány bakteriální flórou tlustého střeva na jednoduché fenolové kyseliny[31,32]. U pacientů, kterým bylo 3× denně podáváno sondou 100 mg katechinů z *Camellia sinensis* (čaje), došlo k významnému snížení pH v tlustém střevě a změnám ve složení bakteriální flóry[33]. Katechiny lze řadit mezi prebiotika.



silybin



silychristin



silydianin

Obr. 3. **Flavonolignany silymarinového komplexu**

Řada flavonoidů (např. genistein, kvercetin, naringenin, rutin), rostlinných extraktů bohatých na flavonoidy a silymarin, vykazují gastroprotektivní aktivitu v experimentálních modelech akutního žaludečního vředu (erozní gastritidy). U indomethacinem vyvolané gastritidy dochází ke snížení tvorby mukosy a zeslabení její vrstvy na povrchu žaludeční sliznice a ke snížení tvorby hydrogenuhličitanu sodného. Jako důsledek inhibice cyklooxygenasy-1 (COX-1) je v metabolismu arašidonové kyseliny preferována lipoxygenasová cesta. Tím dochází ke zvýšené tvorbě leukotrienů podporujících zánět. Protektivní účinek flavonoidů je připisován jejich schopnosti inhibovat lipoxygenasy a tím modifikovat produkci eikosanoidů přes kaskádu arašidonové kyseliny[34,35]. Významný je rovněž jejich antioxidační účinek (eliminace kyslíkatých radikálů, aktivace antioxidačních enzymů, např. glutathionperoxidasy a antilipoperoxidační aktivita). Silymarin signifikantně snižoval makroskopické poškození sliznice tlustého střeva vyvolané u potkanů trinitrobenzensulfonovou kyselinou a lze předpokládat jeho protektivní účinek u toxické a ulcerozní kolitidy[36]. Silymarin snížil aktivitu střevní myeloperoxidasy, tvorbu lipoperoxidačních produktů a zlepšil antioxidační statut GIT. Flavonoidy v GIT působí rovněž jako protizánětlivé látky inhibicí exprese střevní inducibilní NO-syntasy a cyklooxygenasy-2 (COX-2) (cit. [37]). Zejména inhibice COX-2, enzymu, jehož exprese je spojena s progresivní indukcí neoplasie, může být významná v prevenci karcinomů tlustého střeva. Kolorektální mukosa je velmi citlivá na karcinogeny. Aditivní inhibice COX-2 flavonoidy a nesteroidními antiflogistiky potencuje v tlustém střevě chemoprotektivní potenciál obou skupin látek[38]. Flavonoidy potlačují stimulaci imunitního systému mukosy metabolity komensálních (synbiotických) střevních bakterií[39].

Některé flavonoidy, např. ze skořice (*Cinnamonum zeylanicum*) nebo česneku (*Allium sativum*), jsou antimikrobiálně účinné vůči *Helicobacter pylori*, bakterii, která je příčinou neerozivní gastritidy[40]. Longitudinální epidemiologická studie holandské populace (muži a ženy ve věku 55 až 69 let) prokázala statisticky významný inverzní vztah mezi spotřebou cibule (flavonol kvercetin)/póru (flavonol kemferol) a relativním rizikem nádorového onemocnění žaludku[41]. V *in vitro*

studiích byl prokázán inhibiční efekt fenolových kyselin (di- a trihydroxybenzoové, kávové, ferulové, chlorogenové) a různých flavonoidů na aktivitu trávicích enzymů, trypsinu a α--amylasy[42,43]. Fyziologické důsledky těchto aktivit při konzumaci stravy bohaté na fenolové látky nejsou objasněny. Kvercetin (flavonol) a apigenin (flavon) stimulují relaxaci hladkého svalstva inhibicí influxu vápenatých iontů do buněk a inhibují uvolňování acetylcholinu. V alternativním lékařství jsou rostlinné extrakty bohaté na kvercetin a apigenin používány jako spasmolytika[13]. Většina fenolových látek vykazuje *in vitro* spektrum antimikrobiálních aktivit, z čehož je vyvozován jejich možný pozitivní vliv na složení a metabolismus střevní mikroflóry. Prozatím však není přesvědčivě doložen[7].

Na buněčných liniích odvozených od lidských nádorů tlustého střeva byl prokázán antiproliferativní efekt 26 flavonoidů ze skupin flavonů, flavonolů, flavanonů a isoflavonů (IC_{50} = 50–200 μM), který nebyl provázen cytotoxicitou[29]. Ze studie však nevyplynuly zřejmé vztahy mezi strukturou a účinností či selektivitou testovaných látek, flavony obsahující jednu nebo dvě hydroxyskupiny byly neúčinné. Mechanismus účinku flavonoidů, studovaný na nádorové linii HT-29 a transformovaných myších kolonocytech, předpokládá stimulaci apoptosy a buněčné diferenciace i inhibici buněčného cyklu zásahem do transkripce mRNA genů zúčastněných v těchto procesech[44]. Rovněž fytoestrogenní metabolity lignanů, enterolakton a enterodiol, signifikantně inhibovaly růst uvedených nádorových buněk[24]. Silymarin podávaný v dietě potkanům účinně chránil před vznikem nádoru tlustého střeva indukovaného azoxymethanem[45]. Silymarin indukoval apoptosu buněk adenokarcinomu, snižoval aktivitu β-glukuronidasy a tvorbu prostaglandinu E_2 a polyaminů ve střevní mukose. Citované výsledky potvrzují chemopreventivní účinek flavonoidů v tlustém střevě.

4. Fytosteroly

Fytosteroly jsou přirozenou součástí olejů ze semen řady rostlin; bohatým zdrojem jsou např. semena dýně (*Cucurbitae pepo*) (cit.[46]). Přidávají se do rostlinných másel (FLORA Active), která jsou doporučována jako funkční potravina v prevenci kardiovaskulárních chorob. Studie biologické aktivity fytosterolů se koncentrovaly na jejich vliv na metabolismus lipidů – snížení celkového a LDL-cholesterolu[47]. V poslední době byl výzkum zaměřen na objasnění jejich možné protinádorové aktivity a účinku na metabolismus bakteriální flóry tlustého střeva.

Výskyt a struktura

Biogeneze fytosterolů u fotosyntetických organismů je až po vznik skvalenu identická s biosyntézou cholesterolu u obratlovců. Bylo popsáno více než 200 různých steroidů rostlinného původu. Většina fytosterolů obsahuje 27 až 29 uhlíkových atomů a jednu až dvě dvojné vazby. Nejrozšířenější jsou kampesterol, β-sitosterol a stigmasterol (obr. 4). Hydrogenací dvojné vazby Δ^5-sterolů v poloze C-5 vznikají dihydroderiváty fytosterolů, tzv. stanoly. Kromě volných fytosterolů se vyskytují rovněž čtyři typy konjugátů, ve kterých je 3β-OH skupina esterifikována (mastnou kyselinou nebo skořicovou kyselinou) nebo glykosylována (nejčastěji glukosou nebo jejím derivátem esterifikovaným na C-6 vyšší mastnou kyselinou) (cit.[47]).

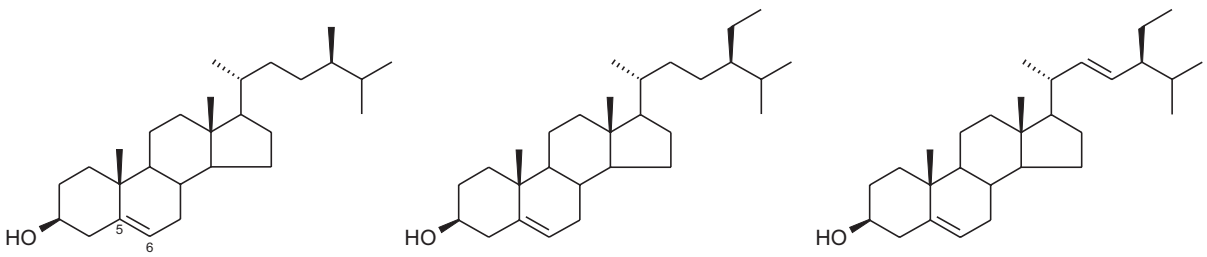
Metody stanovení

Stanovení celkových fytosterolů v rostlinném materiálu zahrnují extrakci nepolárními rozpouštědly (obvykle hexanem), hydrolýzu konjugátů (esterů nebo glykosidů) a kvantifikaci volných nebo derivatizovaných sterolů ve formě trimethylsilyl/acetylderivátů kapilární plynovou chromatografií (GC/GC-MS). Byly popsány metody využívající HPLC na reverzní fázi. Jejich rozlišení a citlivost však nedosahuje parametrů plynové chromatografie[47].

Účinky v trávicím traktu a jejich mechanismus

Fytosteroly se v tenkém střevě absorbují jen v omezené míře, přibližně 95 % fytosterolů přijatých potravou přechází do tlustého střeva, kde je menší část metabolizována bakteriálními enzymy (zejména cholesteroldehydrogenasou). Metabolity, převážně hydrogenované steroly (stanoly) a 3-oxosteroly, jsou spolu s netransformovanými fytosteroly vylučovány stolicí[48]. Studie na dobrovolnících konzumujících ztužené rostlinné oleje obohacené fytosteroly (8,6 g fytosterolů na den) potvrdila, že fytosteroly nemají prebiotický účinek a výrazně neovlivňují složení a metabolismus střevní mikroflóry[49].

Dominantním a detailně prostudovaným účinkem fytosterolů v trávicím traktu je inhibice intestinální absorpce cholesterolu[46,47]. Řada experimentálních studií dokumentuje protinádorovou aktivitu fytosterolů ve střevě[46]. Dieta obohacená β-sitosterolem (0,2–0,3 %) vedla u potkanů ke snížení vzniku nádorů indukovaných methylnitrosomočovinou. Dietní fytosteroly byly rovněž schopny zvrátit u myší hyperproliferaci



kampesterol β-sitosterol stigmasterol

Obr. 4. **Významné fytosteroly**

sliznice tlustého střeva vyvolanou dietou obohacenou cholovou kyselinou. Mechanismus protinádorového účinku fytosterolů však nebyl objasněn. Dosavadní poznatky naznačují, že fytosteroly potlačují bakteriální transformace cholesterolu a sekundárních žlučových kyselin v tlustém střevě a tím tvorbu metabolitů, které jsou považovány za nádorové promotory v tlustém střevě[46,49]. Jedna z nejrozsáhlejších epidemiologických studií (Netherlands Cohort Study on Diet and Cancer), do které bylo zařazeno 120 852 subjektů, však nepotvrdila statisticky významný vztah mezi vysokým příjmem rostlinných sterolů v potravě a sníženým rizikem kolorektálních karcinomů.Výsledkem studie je konstatování, že dietní fytosteroly v denní dávce do 400/500 mg na den (ženy/muži) pravděpodobně nejsou účinné v prevenci nádorů tlustého střeva[6].

5. Oligo- a polysacharidy s β-glykosidovou vazbou

Oligo- a polysacharidy mají v rostlinách funkci zásobních látek (např. škrob a inulin), strukturních elementů buněčných stěn (např. celulosa) a jiné, např. ochranné funkce (slizy) (cit.[50]). Rostlinné sacharidy se mezi sebou liší zastoupením jednotek (glukosa, fruktosa, galakturonová kyselina), větvením řetězců a konfigurací glykosidové vazby (α/β). Oligo- a polysacharidy s α-glykosidovou vazbou jsou hydrolyzovatelné již v horní části GIT, zatímco většina sacharidů s β--glykosidovou vazbou se štěpí až v tlustém střevě.

Výskyt a struktura

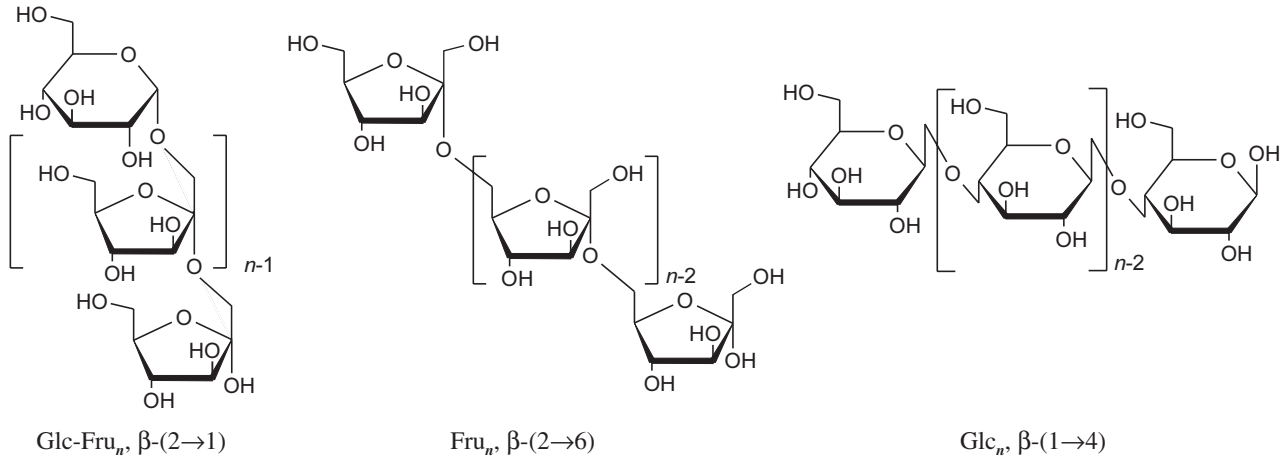
Oligo- a polysacharidy s β-glykosidovou vazbou jsou zásobními cukry rostlin zejména čeledí *Asteraceae*, *Boraginaceae*, *Campanulaceae*, *Liliaceae* a *Poaceae*[50]. Ve své molekule mají fruktosu a glukosu a pro jejich směsi izolované z rostlin se užívá název glukofruktany nebo fruktany, obsahují-li pouze fruktosu. Jako zdroje fruktanů jsou známy artyčok zeleninový (*Cynara scolymus*), čekanka obecná (*Cichorium intybus*), smetánka lékařská (*Taraxacum officinale*), topinambur (*Helianthus tuberosus*) a jakon (*Smallanthus sonchifolius*). Fruktany lze zařadit do tří strukturních skupin: *i*) lineární β-(2→6) polymery – levany, *ii*) rozvětvené β-(2→6) a β-(2→1) polymery a *iii*) lineární β-(2→1) polymery s malým výskytem větvení – inuliny (obr. 5). Většina inulinů představuje směs oligomerů a polymerů, ve kterých je fruktofuranosový řetězec ukončen glukosou připojenou α-(1→2) vazbou na terminální části molekuly. Polymerační stupeň nativního inulinu z čekanky je mezi 5 a 65, s průměrem 10. Po odstranění nízkopolymerní složky získáme tzv. HP inulin s průměrným polymeračním stupněm okolo 25. K dalším rostlinným cukrům s β-glykosidovou vazbou patří oligosacharidy galaktosy, xylooligosacharidy a galaktosidy raffinosa a stachyosa. Polysacharidy se získávají z rostlin extrakcí horkou vodu. Pro potravinářské účely jsou některé β-oligosacharidy vyráběny semisynteticky buď hydrolýzou polysacharidů nebo biotechnologickými postupy ze sacharosy nebo laktosy (tabulka I, cit.[51]).

Metody stanovení

Oligosacharidy se stanovují pomocí HPLC na stacionární fázi Lichrospher 100-5, NH_2 s mobilní fází acetonitril/H_2O (7:3) při teplotě 24 °C a RI detekcí. Touto metodou lze stanovit v inulinu jednotlivé fruktany až do GF_{10} vedle sacharosy, glukosy a fruktosy. Glukosu a fruktosu, které se touto metodou špatně dělí, lze stanovit na koloně se stacionární fází „Polymer IEX Ca^{2+} form“ ve vodě jako mobilní fázi a RI detekcí. Inulin s vyšším polymeračním stupněm se stanovuje na koloně „Carbo Pac PA1“ v gradientu NaOH/natrium acetát pulzní amperometrickou detekcí s Au elektrodou[52].

Účinky v trávicím traktu a jejich mechanismus

Oligo- a polysacharidy s β-glykosidovou vazbou patří z pohledu jejich funkce v GIT mezi rozpustné vlákniny. Nerozpustná vláknina (např. celulosa) stimuluje peristaltiku střeva, zkracuje dobu průchodu potravy trávicím traktem, zvyšuje objem stolice a zadržuje ve stolici vodu, váže žlučové kyseliny a tím zvyšuje obrat cholesterolu v organismu[53]. Nerozpustná vláknina se vylučuje beze změny stolicí. Na rozdíl od nerozpustné (fermentaci nepodléhající) vlákniny jsou β-sacharidy v tlustém střevě hydrolyzovány a štěpeny bakteriální flórou. Jsou to zejména bakterie rodů *Bifidobacterium* a *Lactobacil-*



Glc-Fru$_n$, β-(2→1) Fru$_n$, β-(2→6) Glc$_n$, β-(1→4)

Obr. 5. **Některé nestravitelné β-oligo- a polysacharidy**

Tabulka I
Přehled oligosacharidů s potenciálním prebiotickým účinkem

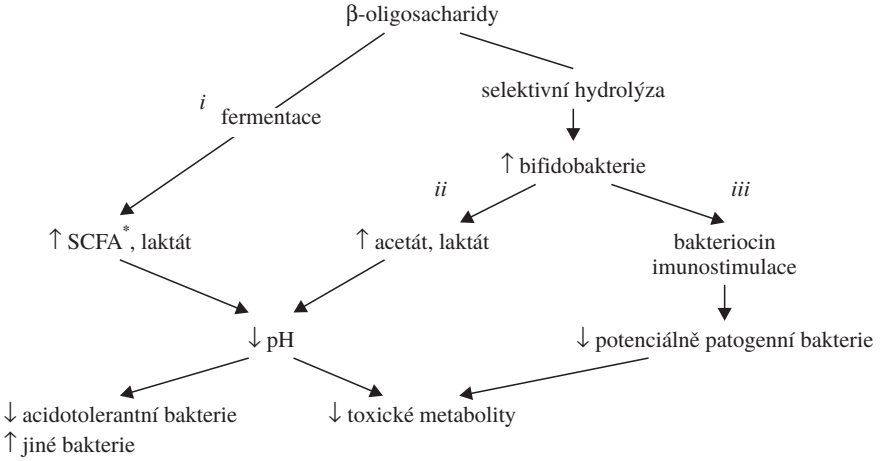
Oligosacharid	Struktura	Vazba	Proces	Původ
Fruktooligosacharidy	$(Fru)_n$-Glc	β-(2→1), α-(1→2)	syntéza	sacharosa
	$(Fru)_n$, $(Fru)_n$-Glc	β-(2→1)	hydrolýza	inulin
	$(Fru)_n$, $(Fru)_n$-Glc	β-(2→1), β-(2→6)	hydrolýza	cereálie
Galaktooligosacharidy	$(Gal)_n$-Glc	β-(1→4), β-(1→6)	syntéza	laktosa
Laktulosa	Gal-Fru	β-(1→4)	isomerizace	laktosa
Laktosacharosa	Gal-Glc-Fru	β-(1→4)	syntéza	laktosa
Oligosacharidy sojových bobů	$(Gal)_n$-Glc-Fru	α-(1→6), α-(1→2)	hydrolýza	soja
Glukooligosacharidy	$(Glc)_n$	α-(1→2), α-(1→6)	syntéza	sacharosa
	$(Glc)_n$	β-(1→3)	hydrolýza	chaluhy
Isomaltooligosacharidy	$(Glc)_n$	α-(1→6)	hydrolýza	škrob
Xylooligosacharidy	$(Xyl)_n$	β-(1→4)	hydrolýza	cereálie

lus, které jsou považovány za indikátory vyvážené střevní mikroflóry a štěpí β-sacharidy za vzniku nižších karboxylových kyselin (máselné, mléčné, propionové a octové), oxidu uhličitého, methanu a vodíku[11,54]. Nižší karboxylové kyseliny jsou hlavním energetickým zdrojem pro sliznici tlustého střeva, mají zásadní význam pro výživu, obnovu, diferenciaci a ochranu kolonocytů a snižují hodnotu pH (cit.[55]). Jejich další příznivé účinky spočívají v ovlivnění intestinální absorpce živin (snižují vstřebávání glukosy, triacylglycerolů a cholesterolu, což vede ke snížení plazmatických hladin těchto látek) a zlepšují morfologii střevních klků. Podporují růst bifidobakterií a laktobacilů doprovázený poklesem populací patogenních a potenciálně patogenních bakterií rodů *Bacteroides*, *Clostridium* a enterobakterií[11,54]. Na modelu potkanů, ale i na jiných zvířecích druzích, prasatech a drůbeži, bylo potvrzeno, že malé množství oligosacharidů (0,2–2 % fruktooligosacharidů, galaktooligosacharidů nebo laktulosy, disacharidu vyráběného z laktosy) v dietě je schopno udržet potenciálně patogenní bakterie na velmi nízkých hladinách[11,54].

Ve snaze vysvětlit změny v bakteriálních populacích byly navrženy tři mechanismy: *i*) rychlá fermentace oligosacharidů střevními bakteriemi, která vede k tvorbě velkého množství mastných kyselin o krátkém řetězci (C2–C4). Následný pokles pH v tlustém střevě pak stimuluje růst bifidobakterií a laktobacilů odolných vůči kyselému prostředí, zatímco bakterie na toto prostředí citlivé (např. klostridia, *Escherichia coli*) jsou potlačeny, *ii*) selektivní hydrolýza oligosacharidů bifidobakteriemi způsobuje pokles střevního pH jako důsledek tvorby metabolitů, hlavně acetátu a laktátu, *iii*) některé bakterie fermentující oligosacharidy produkují látku podobnou bakteriocinu, který inhibuje růst klostridií, *E. coli* a mnoha jiných patogenních bakterií (obr. 6, cit.[54]).

Snížení hodnoty pH v důsledku fermentace oligosacharidů v tlustém střevě a absorpce mastných kyselin o krátkém řetězci zlepšuje intestinální absorpci vápníku, hořčíku a železa, a tím podporuje kalcifikaci kostí. Studie na potkanech ukázaly, že oligofruktosa zlepšuje vstřebávání vápníku a hořčíku v tenkém střevě[55,56]. U zdravých lidí dávka oligosacharidů 15–40 g na den zvyšuje absorpci vápníku[57,58].

Oligosacharidy ovlivňují pozitivně sekreci inzulínu, a tím redukují postprandiální glykémii (zvýšení hladiny glukosy v krvi po jídle), což naznačuje, že tyto látky by mohly být využity jako náhradní sladidla[59]. Fruktooligosacharidy s dlouhým řetězcem (dávka 8–14 g na den) snižují rovněž choleste-



Obr. 6. **Účinky β-oligosacharidů na mikroflóru tlustého střeva**; * nižší karboxylové kyseliny

rolémii, LDL-cholesterol nebo triacylglycerolémii u zdravých a diabetických subjektů[60,61]. Oligosacharidy snižovaly počet střevních žlázových struktur, jejichž vznik byl u potkanů a myší vyvolán dimethylhydrazinem (DMH), 2-amino-3-methylimidazo[4,5-*f*]chinolinem nebo azoxymethanem[54]. Synergický účinek byl pozorován, pokud byly v dietě oligosacharidy (prebiotikum) a bifidobakterie (probiotikum). U potkana byl sledován protinádorový účinek prebiotik na vyvolání kolorektálního karcinomu podáváním DMH (cit.[62,63]). Efekt se zvyšoval v řadě oligofruktosa, inulin, HP inulin. Při použití kombinace HP inulinu s *Bifidobacterium longum* došlo k poklesu o cca 70 % ve srovnání s 20 % při použití jen probiotika či prebiotika[64], což potvrdilo synergické působení kombinovaných přípravků (synbiotik) (cit.[65]). Preventivní význam rozpustné vlákniny pro snížení rizika vzniku kolorektálního karcinomu byl prokázán v několika klinických a epidemiologických studiích[2,65,66].

6. Závěr

Přehled literárních dat podporuje účelnost pravidelného denního příjmu polyfenolů, fytosterolů a nestravitelných oligo- a polysacharidů v dietě ve formě funkční potraviny/potravního doplňku. Jejich pozitivní fyziologické účinky na funkci trávicího traktu živočichů jsou násobeny jejich chemoprotektivním účinkem, snižujícím významně riziko vzniku nádorových onemocnění. Kauzální vysvětlení účinků v článku diskutovaných fytochemikálií na gastritidy, ulcerózní kolitidu, modulaci proliferace a apoptosy epiteliálních buněk, imunomodulaci, složení mikroflóry GIT, absorpci živin či peristaltickou funkci střev vychází z experimentů na buněčných modelech nebo zvířatech a je aplikováno na člověka. Na rozdíl od dietní vlákniny[53], nejsou pro polyfenolové látky a fytosteroly dostatečně známy jejich doporučené denní dávky. Přes všechny tyto ne vždy dostatečně vědecky doložené poznatky (zejména schází více klinických studií) lze pozitivní účinky přírodních fenolových látek, sterolů a nestravitelných β-oligo- a polysacharidů na GIT člověka považovat za průkazné.

Autoři děkují za finanční podporu MŠMT ČR (grant MSM 151100003) a MPO ČR (grant FD-K/096).

LITERATURA

1. Johnson I. T.: Proc. Nutr. Soc. *60*, 481 (2001).
2. La Vecchia C., Chatenoud L., Altieri A., Tavani A.: Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. *11*, 10 (2001).
3. Hathcock J.: J. Nutr. *131*, 1114S (2001).
4. Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 23/2001 Sb., *kterou se stanoví druhy potravin určené pro zvláštní výživu a způsob jejich použití* (MZe 2001).
5. European Parliament and Committee: Directive 96/84/EC on the approximation of *the Laws of the Member States Relating Intended to Foodstuffs for Particular Nutritional Uses* (EC 1996).
6. Normén A. L., Brants H. A. M., Voorrips L. E., Andersson H. A., van den Brandt P. A., Goldbohm R. A.: Am. J. Clin. Nutr. *74*, 141 (2001).
7. Puupponen-Pimiä R., Aura A.-M., Oksman-Caldentey K.-M., Myllärinen P., Saarela M., Mattila-Sandholm T., Poutanen K.: Trends Food Sci. Technol. *13*, 3 (2002).
8. Belluzzi A.: Proc. Nutr. Soc. *61*, 391 (2002).
9. Wenk C.: WPSA, Bremen, 17.6.2002.
10. Frič P.: Z. Gastroenterology *40*, 197 (2002).
11. Guarner F., Malagelada J.-R.: Lancet *361*, 512 (2003).
12. Herbert R. B.: *The Biosynthesis of Secondary Metabolites*. Chapman and Hall, London 1989.
13. Middleton E., Kandaswami C., Theoharides T. C.: Pharmacol. Rev. *52*, 673 (2000).
14. Tapiero H., Tew K. D., Nguyen Ba G., Mathé G.: Biomed. Pharmacother. *56*, 200 (2002).
15. Vinson J. A., Proch J., Bose A.: Methods Enzymol. *335*, 103 (2001).
16. Zheng W., Wang S. Y.: J. Agric. Food Chem. *49*, 5165 (2001).
17. Klejdus B., Vitamvásová-Štěrbová D., Kubáň V.: Anal. Chim. Acta *450*, 81 (2001).
18. Grynová L., Jandera P., Škopová G., Horna A.: Chem. Listy *96*, 467 (2002).
19. Jirovský D., Horáková D., Kotouček M., Valentová K., Ulrichová J.: J. Sep. Sci. *26*, 739 (2003).
20. Suntornsuk L.: J. Pharm. Biomed. Anal. *27*, 679 (2002).
21. Kvasnička F., Biba B., Ševčík R., Voldřich M., Krátká J.: J. Chromatogr., A *990*, 239 (2003).
22. Maleš Ž., Medić-Šarić M.: J. Pharm. Biomed. Anal. *24*, 353 (2001).
23. Packer L.: Methods Enzymol. *335*, (2001).
24. Wang L.-Q.: J. Chromatogr., B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci. *25*, 289 (2002).
25. Ford J. D., Davin L. B., Lewis N. G.: *Plant Lignans and Health: Cancer Chemoprevention and Biotechnological Opportunities. Plant Phenolics 2*, str. 675. Kluwer Academic, New York 1999.
26. Scalbert A., Morand C., Manach C., Rémésy C.: Biomed. Pharmacother. *56*, 276 (2002).
27. Németh K., Plumb G. W., Berrin J.-G., Juge N., Jacob R., Naim H. Y., Williamson G., Swallow D. M., Kroon P. A.: Eur. J. Nutr. *42*, 29 (2003).
28. Gee J. M., Johnson I. T.: Curr. Med. Chem. *8*, 1245 (2001).
29. Kuntz S., Wenzel U., Daniel H.: Eur. J. Nutr. *38*, 133 (1999).
30. Aura A.-M., O'Leary K.A., Williamson G., Ojala M., Bailey M., Puupponen-Pimiä R., Nuutila A. M., Oksman-Caldentey K.-M., Poutanen K.: J. Agric. Food Chem. *50*, 1725 (2002).
31. Wang L.-Q., Meselhy M. R., Li, Y., Nakamura N., Min B.-S., Qin G.-W., Hattori M.: Chem. Pharm. Bull. *49*, 1640 (2001).
32. Déprez S., Brezillon C., Rabot S., Philippe S., Mila I., Lapierre C., Scalbert A.: J. Nutr. *130*, 2733 (2000).
33. Hara Y. J.: Cell Biochem. Suppl. *27*, 52 (1997).
34. Khayyal M. T., El-Ghazaly M. A., Kenawy S. A., Seif-El-Nasr M., Mahran L. G., Kafafi Y. A. H., Okpanyi S. N.: Arzneim.-Forsch./Drug Res. *51*, 545 (2001).
35. La Casa C., Villegas I., Alarcón de la Lastra C., Motilva V., Martín Calero M. J.: J. Ethnopharmacol. *71*, 45 (2000).
36. Cruz C., Galvez J., Crespo E., Ocete M. A., Zarzuelo A.: Planta Med. *67*, 94 (2001).
37. Raso G. M., Meli R., Di Carlo G., Pacilio M., Di Carlo R.: Life Sci. *68*, 921 (2001).

38. Patrignani P.: Toxicol. Lett. *112–113*, 493 (2000).
39. Podolsky D. K.: New Engl. J. Med. *347*, 417 (2002).
40. Fukai T., Marumo A., Kaitou K., Kanda T., Terada S., Nomura T.: Life Sci. *71*, 1449 (2002).
41. Dorant E., van den Brandt P. A., Goldbohm R. A., Sturmans F.: Gastroenterology *110*, 12 (1996).
42. Rohn S., Rawel H. M., Kroll J.: J. Agric. Food Chem. *50*, 3566 (2002).
43. Maliar T., Jedinák A., Šturdík E.: Chem. Listy *96*, S126 (2002).
44. Wenzel U., Kuntz S., Brendel M. D., Daniel H.: Cancer Res. *60*, 3823 (2000).
45. Kohno H., Tanaka T., Kawabata K., Hirose Y., Sugie S., Tsuda H., Mo H.: Int. J. Cancer *101*, 461 (2002).
46. Moreau R. A., Whitaker B. D., Hicks K. B.: Prog. Lipid Res. *41*, 457 (2002).
47. Ling W. H., Jones P. J. H.: Life Sci. *57*, 195 (1995).
48. Weststrate J. A., Ayesh R., Bauer-Plank C., Drewitt P. N.: Food Chem. Toxicol. *37*, 1063 (1999).
49. Ayesh R., Weststrate J. A., Drewitt P. H., Hepburn P. A.: Food Chem. Toxicol. *37*, 1127 (1999).
50. Bruneton J.: *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*, str. 55. Lavoisier Publishing, Paris 1993.
51. Roberts S. M.: J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 *2000*, 611.
52. Valentová K., Přikrylová V., Křen V., Halada P., Ulrichová J., Šimánek V.: Chem. Listy *96*, 496 (2002).
53. Zadák Z.: www.mednet.cz/výživa/výživa3.htm (2000), 15.3.2003.
54. Collins M. D., Gibson G. R.: Am. J. Clin. Nutr. *69*, 31052 (1999).
55. Suzuki T., Hara H., Kasai T., Tomita F.: Biosci., Biotechnol., Biochem. *62*, 837 (1998).
56. Ohta A., Motohashi Y., Sakai K., Hirayama M., Adachi T., Sakuma K.: Scand. J. Gastroenterol. *33*, 1062 (1998).
57. Coudray C., Bellanger J., Castiglia-Delavaud C., Remesy C., Vermorel M., Rayssignuier Y.: Eur. J. Clin. Nutr. *51*, 375 (1997).
58. Van den Heuvel E., Schoterman M. H. C., Muijs T.: J. Nutr. *130*, 2938 (2000).
59. Oku T., v knize: *Functional Foods, Designer Foods, Pharmafoods, Neutraceuticals* (Goldberg I., ed.), str. 202. Chapman and Hall, New York 1994.
60. Williams C. M.: J. Nutr. *129*, 1471 (1999).
61. Davidson M. H., Maki K. C.: J. Nutr. *129*, 1474 (1999).
62. Reddy D. S., Hamid R., Rao C. V.: Carcinogenesis *18*, 1371 (1997).
63. Verghese M., Rao D. R., Chawan C. B., Williams L., Shackelford L.: J. Nutr. *132*, 2809 (2002).
64. Verghese M., Rao D. R., Chawan C. B., Shackelford L.: J. Nutr. *132*, 2804 (2002).
65. Modler H. W.: Int. Dairy J. *4*, 383 (1994).
66. Van Loo J., Jonkers N.: Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. *11*, 87 (2001).

M. Modriansk[a], K. Valentová[a], V. Přikrylová[b], and D. Walterová[a] *([a]Institute of Medical Chemistry and Biochemistry, Faculty of Medicine, Palacký University, Olomouc, [b]Laboratory of Biotransformations, Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague):* **Natural Substances in the Prevention of Gastrointestinal Diseases**

Some polyphenols such as lignans, flavonoids, and flavonolignans, phytosterols, and non-digestible oligo- and polysaccharides were shown to have *in vitro* and *in vivo* chemopreventive and other positive physiological effects on the epithelium and metabolic processes in the gastrointestinal tract (GIT) of humans. Most of these substances are metabolized in the colon; some of them stimulate bifidogenic bacteria and Lactobacilli. It was proved that sufficient daily intake of these phytochemicals shows beneficial effects on cancerogenesis in stomach and colon. Functional foods and dietary supplements that contain these substances may play an important role at present when the incidence of cancer diseases of GIT increases.

BIOLOGICKÁ A CHEMICKÁ VARIABILITA MAKY A JAKONU

ALEŠ LEBEDA[a], IVANA DOLEŽALOVÁ[a], KATEŘINA VALENTOVÁ[b], MARTA DZIECHCIARKOVÁ[a], MARIE GREPLOVÁ[c], HANA OPATOVÁ[d] a JITKA ULRICHOVÁ[b]

[a]Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc, [b]Ústav lékařské chemie a biochemie, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého, Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc, [c]Výzkumný ústav bramborářský, s.r.o., Dobrovského 2366, 580 01 Havlíčkův Brod, [d]Ústav konzervace potravin a technologie masa, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 3, 166 28 Praha 6
e-mail: lebeda@prfholnt.upol.cz

Došlo 7.4.03, přepracováno 20.5.03, přijato 28.5.03.

Klíčová slova: andské plodiny, *Lepidium meyenii*, *Smallanthus sonchifolius*, morfologické a výnosové znaky, *in vitro* kultury, isoenzymy, obsahové látky, funkční potraviny

Obsah

1. Úvod
2. Variabilita morfologických a výnosových znaků
3. Pěstování maky *in vitro*
4. Polymorfismus isoenzymů
5. Analýza obsahových látek a jejich účinky
6. Technologie zpracování hlíz jakonu
7. Závěr

1. Úvod

V souvislosti s otevřením trhu začátkem 90. let 20. století a jeho obohacením o nové druhy ovoce a zeleniny pocházející z různých geografických oblastí světa, byly znovu objeveny plodiny u nás do té doby jen velmi málo známé. Zatímco obě zeleniny maka (*Lepidium meyenii* Walp.) i jakon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robins.) byly po druhé světové válce oblíbeny a pěstovány hlavně v západní Evropě (Itálie, Německo), do České republiky byly dovezeny až v roce 1993, a možnost jejich pěstování ověřena poprvé v roce 1995 (cit.[1,2]). Je skutečností, že popularita především jakonu, ale i maky značně vzrostla, a to díky antidiabetickým, nutričním, imunostimulačním a plodnost zvyšujícím vlastnostem jejich podzemních orgánů. Základní dostupné informace týkající se botanických vlastností, biologie a obsahových látek u obou druhů byly přehledně zpracovány v samostatném článku[3]. Předmětem této práce je shrnutí experimentálních poznatků autorů získaných v letech 2001 a 2002, které se týkají morfologické variability, výnosových parametrů, pěstování v podmínkách *in vitro,* variability proteinových markerů a některých nutričně významných látek u obou druhů rostlin doplněných o nejnovější údaje ze světové literatury. Poznatky o uvedených znacích a vlastnostech byly dosud poměrně omezené[3–5]. Proto hlubší poznání těchto znaků a vlastností představuje dílčí část komplexního výzkumu maky a jakonu realizovaného v ČR, jehož cílem bylo využití těchto plodin jako potenciálních funkčních potravin a potravních doplňků dostupných široké veřejnosti[3].

2. Variabilita morfologických a výnosových znaků

Studovaný jedinečný soubor zahrnoval 15 genotypů maky (*Lepidium meyenii* Walp.) (tabulka I) pocházejících z Peru a 25 genotypů jakonu (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robins.) (tabulka I) dovezených z Nového Zélandu (primárním centrem původu je však Ekvádor). Tyto genotypy

Tabulka I
Variabilita tvaru (morfotypu) podzemních částí maky a jakonu pěstovaných v letech 2001 a 2002

Morfotyp	Rok pěstování/číslo genotypu	
	2001	2002
Hypokotyly maky (L. meyenii), hodnoceno podle cit.[10]		
„Kimsa kucho“	13,146	314
„Raku chupa“	13,29,136,145,146, 151,153, 168,265, 280,290,310,314	136,145,151,153, 265,290,Unalm
„Aqochínchay“	136,145,168,290,314	146,265,280
„Achka chupa“	145	
„Ruyru“		168
Kořenové hlízy jakonu (S. sonchifolius), hodnoceno podle cit.[2]		
1	84	
2		18
4	28,47,51,88,1237	18,25,28,47,51, 57,60,75,83,88, 92,1237
5	5,31,60,74,83,85,92	5,6,17,20,22,25, 31,57,68,85,1237
7	25	
8	83	88
11		17,22,64,68,75, 85,88,92,1237
12	18,22,57,75,88,90	6,18,12,20,25,28, 31,51,60,74,75,84, 88, 90,92, 1237
14	6,17,18,20,22,48, 64,68,83,84	17,18,31,14,48,60, 64,68,74,83,84,88

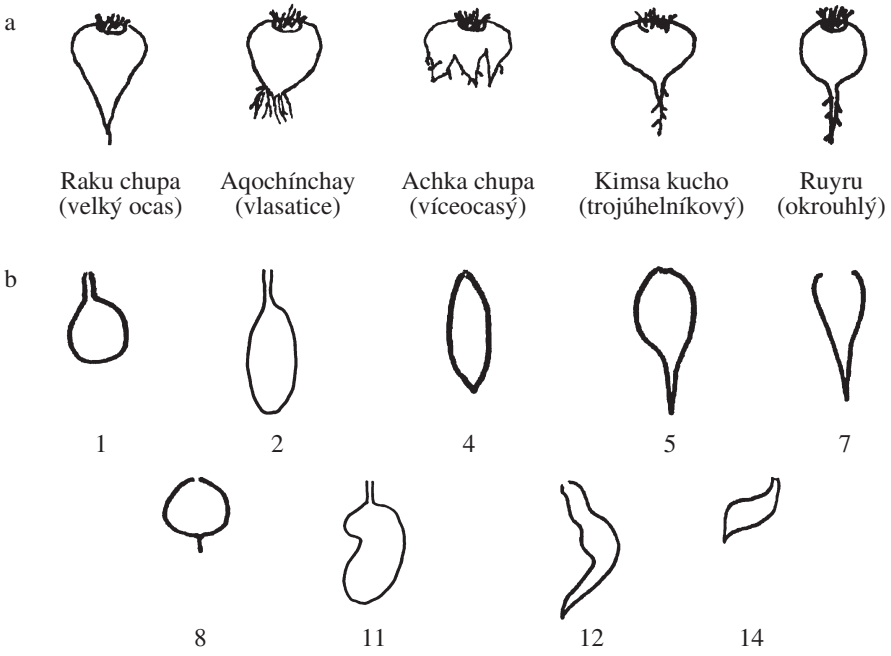
jsou uchovávány jako genové zdroje perspektivních plodin ve Výzkumném ústavu bramborářském, s.r.o., v Havlíčkově Brodě.

Rostliny byly pěstovány a hodnoceny (květen–říjen 2001 a 2002) v polních podmínkách regionu Haná (Olomouc–Holice, nadmořská výška 210 m). V průběhu vegetace byla průměrná denní teplota v roce 2001 16,3 °C, srážky 271,4 mm; v roce 2002 16,4 °C a srážky činily 387,9 mm. Maka byla pěstována na černé netkané textilii ve sponu 45×45 cm. Každý genotyp byl zastoupen 10 rostlinami. Paralelně byly některé genotypy maky pěstovány ve skleníku (teplota přes den 18–30 °C, v noci 12–16 °C). V roce 2002 byla maka pěstována bez textilie. V bezprostředním okolí rostlin pěstovaných na folii docházelo k přehřívání folie a půdy, což bylo spojeno s úžehem spodních listů růžice maky. Jakon byl pěstován v hrůbcích, 5 rostlin od každého genotypu, ve sponu 70×70 cm. V průběhu vegetace byl porost ošetřován tradiční agrotechnikou[6].

Během vegetace byla u obou druhů sledována variabilita nadzemní a podzemní části rostlin[6–9]. V době sklizně byla u genotypů maky stanovena hmotnost a proveden popis tvaru hypokotylu podle platného deskriptoru[10] s přihlédnutím na morfologický deskriptor ředkvičky[11]. U podzemní části jakonu byla zjišťována hmotnost kořenových hlíz a kaudexů. Tvar kořenových hlíz byl popsán podle základního morfologického deskriptoru[2].

Morfologická variabilita hypokotylů maky byla výrazně závislá na ročníku pěstování. U studovaného souboru genotypů maky bylo během obou vegetačních sezón popsáno celkem pět základních tvarů (morfotypů) hypokotylu (tabulka I, obr. 1a). Nejčastější morfotyp maky v roce 2001 „Raku chupa“ byl zaznamenán u 13 genotypů, tvar „Aqochínchay“ u pěti genotypů (tabulka I). Ve druhém roce pěstování patřil k nejčastěji se vyskytujícím morfotypům opět „Raku chupa“ (celkem 17 genotypů), dále pak „Aqochínchay“ (tabulka I). Zatímco u většiny genotypů byly morfotypy hypokotylu variabilní, pouze u šesti genotypů zůstal původní tvar „Aqochínchay“ nezměněn (tabulka I). Z dosud získaných výsledků vyplývá otázka stability, resp. nestability tohoto znaku, tzn. zda si některé genotypy uchovají svůj morfotyp v různých podmínkách prostředí, nebo jej mění v závislosti na klimatických a půdních faktorech. Rovněž v hmotnosti hypokotylů maky byla zjištěna značná variabilita (obr. 2a). V roce 2001 měly největší hmotnost hypokotylu genotypy 145 a 168, naopak u genotypů 29 a 265 byla zjištěna nejmenší hmotnost hypokotylu[6–9]. Ve druhém roce pěstování se jako nejúspěšnější jevily genotypy 280 a 265, nejmenší hmotnost hypokotylu měly genotypy 310 a Unalm amarylla (obr. 2a). Největší hmotnost hypokotylu byla v obou letech pěstování zaznamenána u genotypu 265. Ve druhém roce pokusu však byly hodnoceny rostliny, které se vysazovaly na pole až v září, takže hypokotyly byly ve srovnání s prvním rokem malé.

U souboru genotypů jakonu bylo zaznamenáno celkem devět základních morfotypů hlíz (tabulka I, obr. 1b). V roce 2001 byly nejčastěji popsány morfotypy 14, 12, 5 a morfotyp 4. Morfotypy 1, 7 a 8 měl pouze jeden genotyp jakonu[6–9] (tabulka I). V roce 2002 (tabulka I) se nejčastěji vyskytovaly morfotypy 12, 14, 5, 4 a 11. Morfotypy 2 a 8 byly zaznamenány pouze u jednoho genotypu. Zajímavé je, že u deseti genotypů byly popsány více než dva morfotypy kořenových hlíz, v případě genotypu 88 dokonce pět (tabulka I). Tato skutečnost je rozdílná ve srovnání s rokem 2001, kdy byly jednotlivé genotypy jakonu podstatně homogennější z hlediska morfologické variability tvaru hlíz. Pouze malá část genotypů studovaného souboru měla jednotný tvar hlíz (morfotypy 4, 5, 12 a 14) v obou letech pěstování. V roce 2002 byly nově popsány morfotypy 2 a 11, které se v předchozím roce nevyskytovaly, naopak nebyly zaznamenány morfotypy 1 a 7. Z dosud získa-



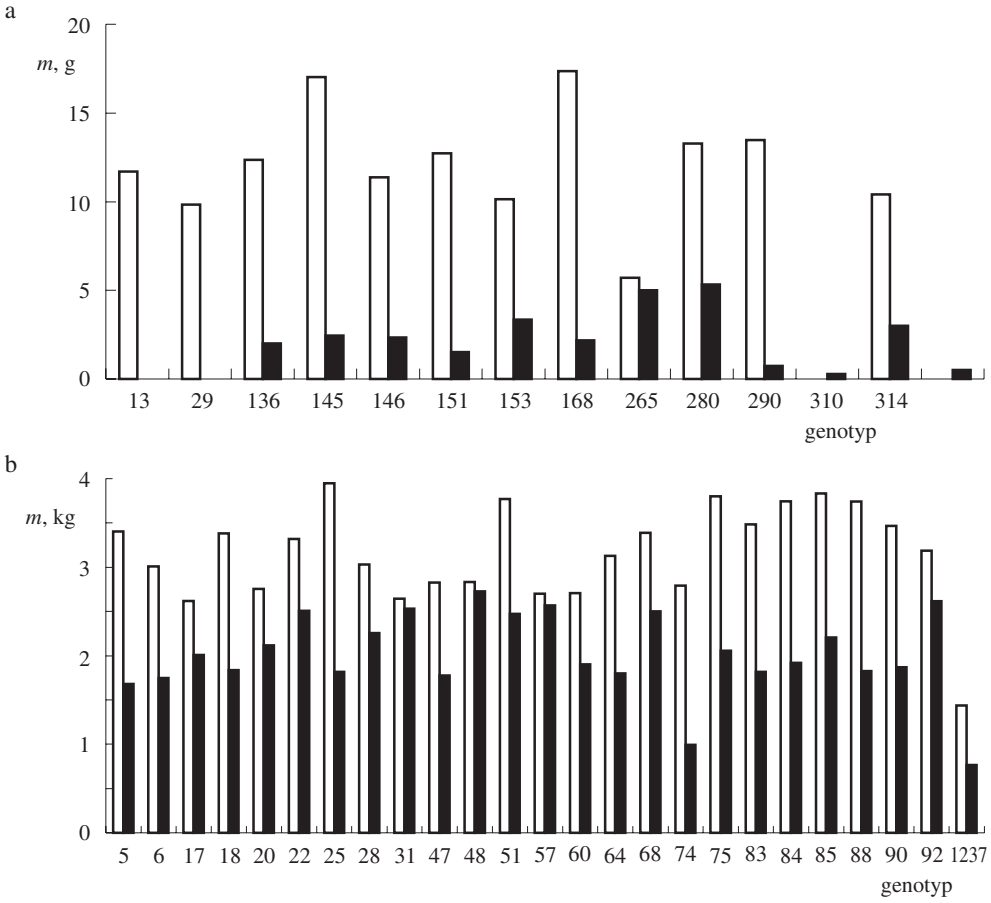
Obr. 1. **Základní tvary (morfotypy) maky a jakonu zjištěné při studiu morfologické variability**; a – hypokotyly maky (*L. meyenii*), podle cit.[10], b – kořenové hlízy jakonu (*S. sonchifolius*), podle cit.[2]

ných výsledků je zřejmé, že stabilita tohoto znaku je poměrně malá a je významně závislá na podmínkách prostředí. Hmotnost kořenových hlíz jakonu se ukázala jako velmi variabilní vlastnost a to jednak mezi jednotlivými genotypy, ale i v rámci ročníků (obr. 2b). V roce 2001 patřily k nejvýnosnějším genotypy 25, 51, 75 a 85, naopak genotyp 1237 měl hmotnost hlíz nejmenší[6–9]. Podstatně menší byla produkce kořenových hlíz v roce 2002. Nejvýnosnější genotypy byly 48, 92 a 57. Stejně jako v předešlém roce, nejméně výnosný byl genotyp 1237.

Z uvedených výsledků je zřejmé, že u obou rostlin existuje mezi jednotlivými genotypy značná morfologická a výnosová variabilita, která je významně ovlivňována podmínkami prostředí. Vzhledem k tomu, že se jedná o první výsledky zjištěné během dvou let experimentální práce, nelze z nich dělat jednoznačné závěry z hlediska homogenity, stability a vlivu faktorů prostředí. Ukazuje se však, že podmínky prostředí střední Evropy pro pěstování maky nejsou zcela optimální a jejich výkyvy výrazně ovlivňují nejen výnos, ale i kvalitu produktu.

3. Pěstování maky *in vitro*

Experimenty s pěstováním maky v podmínkách *in vitro* byly zahájeny v roce 2001. Maka je v našich podmínkách dvouletá plodina, která v prvním roce vytváří přízemní listovou růžici, v druhém roce kvete a produkuje semena. Přestože maka poskytuje množství semen, její pěstování v podmínkách *in vitro* nebylo studováno. *In vitro* udržování a klonování maky považujeme za účelné a nezbytné pro případné další výzkumné záměry. Pro zavedení do kultury *in vitro* byla použita povrchově desinfikovaná semena (velikost 0,8 mm). Nejlepší výsledky klíčení byly dosaženy na standardním MS médiu[12] bez přídavku růstových regulátorů. V průběhu 3–4 dnů došlo ke klíčení a vývoji děložních listů. Na médiu MS lze rostlinky ponechat bez pasáže až 3 měsíce, během nichž postupně dochází k odumírání starých listů a přirůstání nových, a tím prodlužování epikotylu. Po zkrácení kořenů mohou být rostliny přeneseny (pasážovány) na čerstvé standardní MS médium, kde pokračují v růstu. Schopnost regenerace spících úžlabních pupenů na epikotylu souvisí s vitalitou daného genotypu. K podpoře růstu výchozích rostlin byl testován přípravek Alar 85 (dimethylhydrazid kyseliny jantarové, SADH) v dávce 0,1–1,5 mg.l^{-1} média a kinetin (6-furfurylaminopurin, KIN) v koncentraci 0,1–10 μM. Je známo, že Alar a KIN mohou podporovat tvorbu chlorofylu a zpomalovat stárnutí (senescenci) rostlin, KIN navíc stimuluje tvorbu nových pupenů[13,14]. Na médiu s Alarem se tvořil větší počet zelených listů (5–6), na médiu s KIN byl počet listů stejný jako u kontroly (3–4), ale listy byly mohutnější. Při převodu rostlin



Obr. 2. **Srovnání průměrné hmotnosti podzemních částí maky a jakonu u rostlinných genotypů pěstovaných v letech 2001 (□) a 2002 (■)** (hodnoceny hypokotyly rostlin vysetých v červnu 2002); a – hypokotyly maky (*L. meyenii*), b – kořenové hlízy jakonu (*S. sonchifolius*)

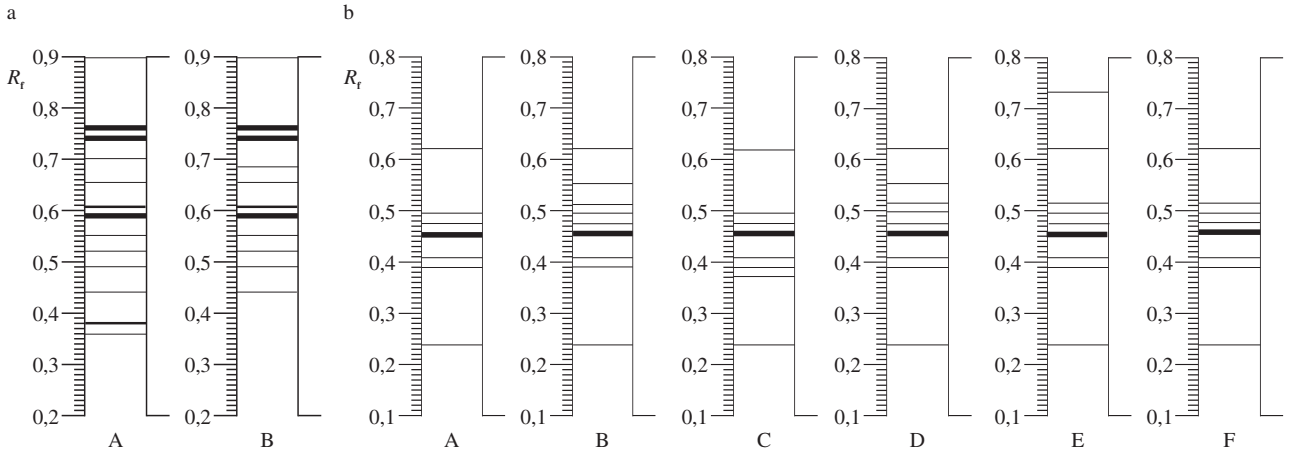
z média o nižší koncentraci KIN (0,1 μM, resp. 0,5 μM) na médium s jeho vyšší koncentrací (0,5 μM resp. 10 μM) došlo k probuzení úžlabních pupenů. Meristémy však byly malé, nedocházelo k jejich dalšímu růstu, a díky tomu se i obtížně extirpovaly (izolovaly). Pro stimulaci tvorby úžlabních pupenů byly testovány růstové regulátory 6-(benzylamino)purin (BAP), zeatin ((*E*)-2-methyl-4-(9*H*-purin-6-ylamino)but-2-en-1-ol, Z) a KIN v koncentračním rozmezí 0,2–1 μM. Při použití KIN se opakoval výše uvedený jev, podobné výsledky byly i na médiu s BAP. V obou případech byly získány maximálně tři prorůstající pupeny resp. meristémy na rostlinu, bez ohledu na použitou koncentraci. Na komerčním multiplikačním médiu A (Sigma) bylo dosaženo iniciace tvorby úžlabních pupenů v rozsahu 4–5 na rostlinu. Působení Z (0,8– 1 μM) bylo efektivnější, celkem bylo dosaženo iniciace tvorby až 7 meristémů na rostlině. Nicméně i na tomto médiu došlo k předčasnému zastavení růstu a regenerace rostlin. K nejintenzivnějšímu prorůstání meristémů na epikotylu (a to i v případě kultivace samotného epikotylu bez kořenů a vrcholových listů) docházelo při kultivaci na médiu E podle Sheparda[15], které obsahuje 0,5 mg.l^{-1} BAP a 0,1 mg.l^{-1} kyseliny giberelové (GA3). Na tomto médiu došlo k prodlužovacímu růstu, který byl zárukou snadné extirpace meristémů, případně mladých rostlinek o velikosti 7–8 mm. Z uvedeného vyplývá potřeba ověřit vyšší dávku BAP (1,5–2 μM) v kombinaci se standardním MS médiem (nejvyšší testovaná dávka BAP byla 1 μM tj. 0,387 mg.l^{-1} na rozdíl od 0,5 mg.l^{-1} BAP v médiu E podle Sheparda[15]). Extirpované meristémy byly kultivovány na MS médiu s přídavkem: *a*) indol-3-yloctové kyseliny (IAA, 2,3 μM), *b*) 1-naftyloctové kyseliny (NAA, 0,1 μM) (cit.[16]), *c*) vitaminů podle Gamborga[17] a přídavkem 0,1 μM GA3, 0,1 μM IAA a 0,1 μM KIN, *d*) 4-indol-3-ylbutanové kyseliny (IBA, 1 mg.l^{-1}), NAA (1 mg.l^{-1}) a 2,4-dichlorofenoxyoctové kyseliny (2,4-D, 0,1 mg.l^{-1}), *e*) bílkovinných extraktů z pšenice, sóji a sójové syrovátky v dávkách 50 ml.l^{-1} média a *f*) L-askorbové kyseliny (5 mg.l^{-1}), thiaminu (5 mg.l^{-1}) a $CaCl_2$ (44,1 mg.l^{-1}). Všechna testovaná média se ukázala jako nevyhovující, ani na jednom z nich nedošlo k úplné regeneraci rostlin. V současné době probíhá testování kultivace odebraných meristémů (mladých rostlinek) na plném MS médiu s přídavkem 0,02–0,1 μM NAA nebo 0,05–0,1 mg IAA.l^{-1} nebo na poloviční koncentraci MS média s přídavkem 1–5 μM NAA. V několika případech bylo pozorováno kořenění, a to při dávce 2 nebo 3 μM NAA a 0,05 mgl^{-1} IAA.

Rostliny maky v podmínkách *in vitro* lze bez pasáže udržovat až 3 měsíce na MS médiu. Experimenty zaměřené na zjištění možnosti dlouhodobé kultivace maky *in vitro* ukázaly, že rostliny ponechané po dobu 10 měsíců na médiu bez pasáže (16 h fotoperioda, 21 °C) většinou zasychají. Pouze několik rostlin přežilo, přešlo do prodlužovacího růstu a vykvetlo. Při kultivaci v chladových podmínkách (10 °C a 8 h fotoperioda) nebyl pozorován zásadní vliv nízké teploty na prodloužení životnosti. U starších a opakovaně pasážovaných rostlin nastupovala rychleji senescence. Ukazuje se, že rostliny maky převedené z *in vitro* do *in vivo* podmínek jsou schopny dalšího růstu a vývoje.

4. Polymorfismus isoenzymů

Směsný vzorek pravých listů odebraných z přízemní růžice pěti mladých rostlin maky byl analyzován standardní metodou[6,9,18]a PAGE gely byla specificky detegována aktivita 17 enzymů: alkoholdehydrogenasa (ADH), diaforasa (DIA), esterasa (EST), fosfoglukomutasa (PGM), glutamát-oxalacetáttransaminasa (GOT), glutamátdehydrogenasa (GDH), glukosofosfátisomerasa (GPI), glukosa-6-fosfátdehydrogenasa (GPD), kyselá fosfatasa (ACP), isocitrátdehydrogenasa (IDH), leucinaminopeptidasa (LAP), malátdehydrogenasa NAD$^+$ (MDH), malátdehydrogenasa NADP$^+$ (ME), NADH dehydrogenasa (NADH DH), superoxiddismutasa (SOD), šikimátdehydrogenasa (SHDH), 6-fosfoglukonátdehydrogenasa (PGD).

Ze 17 enzymů stanovovaných u genotypů maky jich bylo pět vyloučeno (ADH, MDH, PGM, GPI, PGD), protože jejich výsledky nebylo možné interpretovat z důvodu špatné de-



Obr. 3. **Zymogramy isoenzymových spekter esteras**; a – *L. meyenii*, b – *S. sonchifolius*

tekce. Ze zbývajících 12 enzymů pouze esterasa (EST; EC 3.1.1.1.) vykázala určitý, i když velmi nízký, stupeň polymorfismu, přičemž na jeho základě bylo možné genotypy maky rozdělit do dvou skupin (obr. 3a). V rámci celého souboru 12 enzymů bylo zaznamenáno 64 pruhů (isoforem). Zymogramy stanovených isoenzymových spekter EST jsou uvedeny na obr. 3a. I když byla u souboru genotypů *L. meyenii* zjištěna relativně velká variabilita v morfologických znacích hypokotylu i výnosových parametrech (tabulka I, obr. 1a, 2a), nelze ji dát zcela jednoznačně do souvislosti s dosud zjištěným polymorfismem isoenzymů (obr. 3a). Pouze genotyp 145 se svým spektrem odlišoval od všech ostatních. Srovnáme-li tuto odlišnost s hlavními znaky variability hypokotylu (tabulka I) je zřejmé, že v případě tvaru[4] se tento genotyp odlišoval od ostatních pouze v prvním roce pěstování. Pokud jde o hodnocení tvaru ve druhém roce pokusu, můžeme tento genotyp zařadit do skupiny nejčastěji se vyskytujících morfotypů. Od ostatních genotypů se tvarem odlišovaly genotypy 314 a 168. Zajímavé je, že předchozí předběžné analýzy[8] diferencovaly stejný soubor genotypů na základě polymorfismu EST na tři skupiny (A, B, C), přičemž součástí skupiny B byly genotypy 145, 146, 151, 280 a 310, naopak Unalm amarilla byl pouze jediným zástupcem skupiny C. Jiné spektrum zymogramů stanovené v této analýze je však podmíněno použitím odlišného metodického přístupu. Ukazuje se tedy, v souladu s řadou předchozích studií realizovaných u různých rostlinných druhů[19,20], že polymorfismus zjištěný na bázi proteinů může být velmi variabilní, nemusí vykazovat stejné výsledky, a to v závislosti na celé řadě faktorů[6].

U souboru 25 genotypů *S. sonchifolius* byla stanovována přítomnost 16 enzymů (ADH, DIA, EST, PGM, GOT, GDH, GPI, IDH, ACP, LAP, MDH, ME, NADH DH, SOD, SHDH, PGD). Tři z nich (ADH, MDH, PGM) byly vyloučeny z analýz z důvodu špatné vizualizace. Ze zbývajících enzymů bylo 11 homonomních. U 13 sledovaných enzymů bylo celkem zaznamenáno 55 pruhů (isoforem). Pouze kyselá fosfatasa (ACP; EC 3.1.3.2.) a esterasa (EST; EC 3.1.1.1.) však vykázaly u testovaných genotypů polymorfismus. Zymogramy stanovených isoenzymových spekter EST jsou na obr. 3b. Jak je zřejmé z části hodnotící variabilitu kořenových hlíz souboru 25 genotypů *S. sonchifolius* (tabulka I, obr. 1b, 2b), lze na jejím základě diferencovat několik hlavních skupin, a to zejména z hlediska tvaru[2]. Tato variabilita však velmi málo koresponduje se zjištěným polymorfismem EST, na jehož základě byl studovaný soubor rozdělen do šesti skupin (obr. 3b). Nejrozsáhlejší je skupina A, kterou reprezentuje cca 70 % všech studovaných genotypů. V této skupině je však zahrnuta většina morfotypů zjištěných v rámci dosud realizovaných pokusů (tabulka I). Ostatní isoformy reprezentují pouze 1–3 genotypy (obr. 3b). Odlišnosti zymogramů jednotlivých skupin jsou velmi malé a mají proto patrně relativně malou vypovídací schopnost o variabilitě v komplexním pojetí. Obdobné závěry lze učinit i o polymorfismu ACP, i když můžeme říci (tabulka I), že genotypy jakonu zahrnuté do skupiny B tvoří společnou skupinu morfotypů vykazující tvar 5. Tento fakt však platí pouze pro druhý rok pěstování. Současné výsledky o variabilitě EST relativně dobře korespondují s našimi dřívějšími poznatky[6–9], kdy byl stejný soubor genotypů rozdělen na základě polymorfismu EST do čtyř skupin.

Dosavadní výsledky studia polymorfismu enzymových markerů u maky a jakonu jednoznačně ukázaly, že variabilita na této úrovni je v obou případech relativně velmi malá na rozdíl od široké variability v morfologických znacích. Další výzkum by měl zodpovědět otázku týkající se variability proteinů na úrovni jednotlivých rostlin, vlivu faktorů prostředí na homogenitu a stabilitu znaků u jednotlivých genotypů obou plodin, stejně jako na problém výběru nejvhodnějšího genotypu pro komerční pěstování, a to i v souvislosti s obsahem některých nutričně významných látek u obou studovaných druhů.

5. Analýza obsahových látek a jejich účinky

Pro srovnání obsahových látek v mace byl jako standard pro analýzu použit komerčně vyráběný dehydratovaný práškový produkt Maca andina naturalfa (QUIMICA SUIZA) pocházející z Peru. Pro vlastní analýzu obsahových látek byl připraven směsný vzorek hypokotylů maky pěstované v jednotlivých letech (2000–2002), které byly usušeny a rozemlety. Výsledky analýzy základních nutričních složek, minerálů a kontaminujících složek stanovovaných v potravinách v jednotlivých letech ve srovnání s komerčně dodávanou surovinou jsou shrnuty v tabulce II.

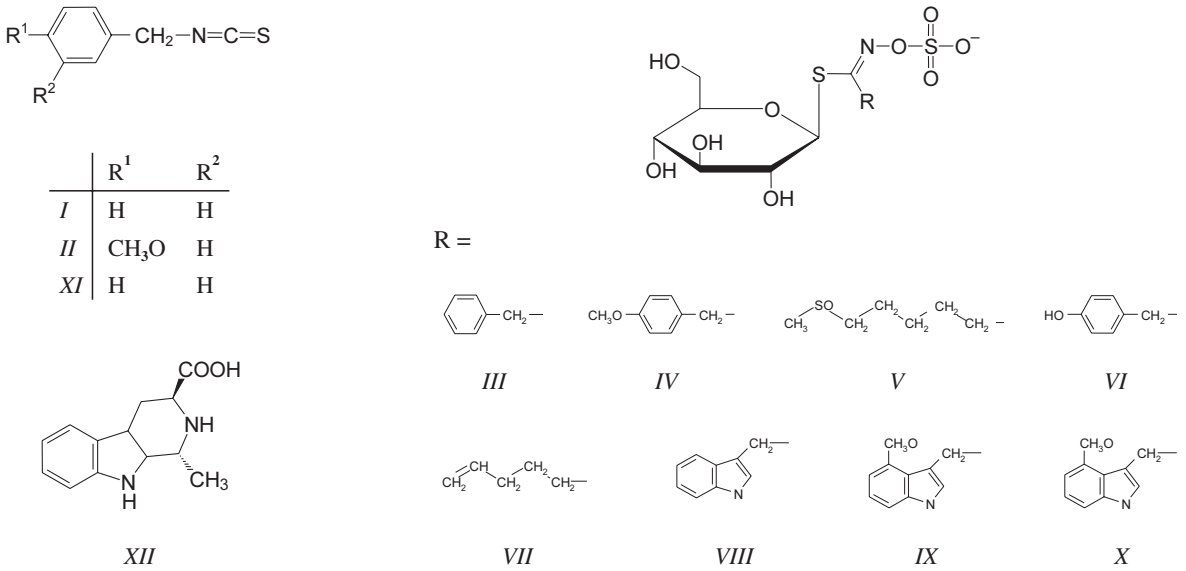
O složení a biologické aktivitě látek v hypokotylu *L. meyenii* bylo do roku 2000 málo informací[3]. Bylo známo složení steroidní frakce, obsahující 9,1 % brassikasterolu, 13,6 % ergosterolu, 27,3 % kampesterolu, 4,5 % ergostadienolu, 45,5 % sitosterolu[21] a popsány struktury dvou isothiokyanátů, benzylisothiokyanátu *I* a 4-methoxybenzylisothiokyanátu *II* (cit.[22]). Tyto látky vznikají v rostlinách hydrolýzou glukosinolátů enzymem myrosinasou a byla u nich popsána protinádorová aktivita[22]. V nedávné době byl analyzován obsah a složení glukosinolátů v semenech, rašících a dospělých rostlinách a v komerčních produktech maky[23]. Ve všech testovaných vzorcích byly v různém poměru nalezeny benzylglukosinolát *III* (glukotropeolin), (4-methoxybenzyl)glukosinolát *IV*, 5-methyl-sulfinylpentylglukosinolát *V* (glukoalyssin), 4-hydroxybenzylglukosinolát *VI*, (pent-4-en-1-yl)glukosinolát *VII* (glukobrassikanapin), (indol-3-ylmethyl)glukosinolát *VIII* (glukobrassicin) a (4-methoxyindol-3-ylmethyl)glukosinolát *IX*. Hypokotyly a nať maky mají díky těmto látkám velmi nepříjemnou vůni. V methanolickém extraktu z hypokotylů maky byly nalezeny glukosinoláty (glukotropeolin *III* a 3-methoxyglukotropeolin *X*), isothiokyanáty (benzylisothiokyanát *I* a 3-methoxybenzylisothiokyanát *XI*) a další látky (uridin, kyseliny jablečná, benzoyljablečná, (1*R*,3*S*)-1-methyl-1,2,3,4,4a,8a-hexahydro-9*H*-β-karbolin-3-karboxylová kyselina *XII*; obr. 4) (cit.[24]), benzylovaný derivát 1-hydroxy-1,2-dihydropyridinu, nazývaný makaridin *XIII*, benzylované amidy (makamidy), (*E*,*E*)-*N*-benzyl-5-oxooktadeka-6,8-dienamid *XIV*, *N*-benzylhexadekanamid *XV* a acyklický makaen – kyselina (*E*,*E*)-5-oxooktadeka-6,8-dienová *XVI* (cit.[25]) (obr. 5). Látky *XIII–XVI* spolu s kyselinami linolenovou a linolovou jsou používány k charakterizaci a standardizaci komerčních přípravků obsahujících maku[26]. Metodou GC/MS byl analyzován esenciální olej z nadzemní části maky a bylo identifikováno celkem 53 komponent[27]. Nejvíce jsou v něm zastoupeny fenylacetonitril (85,9 %), benzaldehyd (3,1 %), (3-methoxyfenyl)-acetonitril (2,1 %) a benzylisothiokyanát (0,6 %).

V literatuře se v posledních dvou letech objevila řada prací popisujících účinky maky na parametry sexuálního výkonu

Tabulka II
Základní nutriční složky (%) a vybrané minerální a kontaminující látky (mg.kg^{-1}) v sušené mace a jakonu

Složky	Maka			Andina	Jakon		Lit.[4]	Metoda
	2000	2001	2002		2001	2002		
			Základní nutriční složky a minerály					
Dusík	6,55	7,63	4,08	1,86	0,73	0,62	–	Kjeldahl
Bílkoviny	40,9	47,7	25,5	11,6	4,6	3,8	6,7	N x 6,25
Sacharidy	9,82	3,25	7,21	25,0	35,2	27,3	58,2	HPLC
Glukosa	2,86	0,92	0,63	1,6	8,98	4,58	35,0	
Fruktosa	0,67	0,35	0,18	0	22,9	16,3	15,8	
Sacharosa	6,29	1,98	6,40	23,4	3,30	6,40	7,4	
Oligosacharidy (jako sacharosa)	0,44	1,24	0,17	4,56	12,0	41,4	22,2	HPLC
Tuky	1,67	1,48	1,66	1,09	0,30	0,56	1,0	Soxhlet
Hrubá vláknina	17,7	15,1	–	9,1	7,1	9,5	5,7	Scharrer
Energetická hodnota, kJ na 100 g	924	921	617	663	687	550	–	Vyhláška 293/1997 Sb.
Draslík	12 980	14 730	16 220	16 200	19 400	14 980	23 200	AAS
Sodík	610	1050	670	260	140	120	119	AAS
			Kontaminanty stanovované v potravinách					
Arzen	0,61	0,58	0,15	0,59	0,04	0,17	3[a]	ICP-MS
Kadmium	0,18	0,15	0,15	0,56	0,25	0,03	0,5[a]	ICP-MS
Olovo	0,92	1,43	0,48	2,47	0,04	0,05	8[a]	ICP-MS
Měď	8,0	10,3	7,0	5,14	4,5	4,6	80[a]	ICP-MS
Nikl	1,9	2,7	1,1	0,49	1,5	0,56	6[a]	ICP-MS
Zinek	61,8	67,5	40,9	58,4	8,5	7,6	80[a]	ICP-MS
Železo	385	865	223	72,3	11	23	80[a]	ICP-MS
Dusičnany	2860	7080	2870	<100	1720	100	2000[a]	kapilární isotachoforéza

[a] Přípustné množství dle vyhlášky 298/1997 Sb.

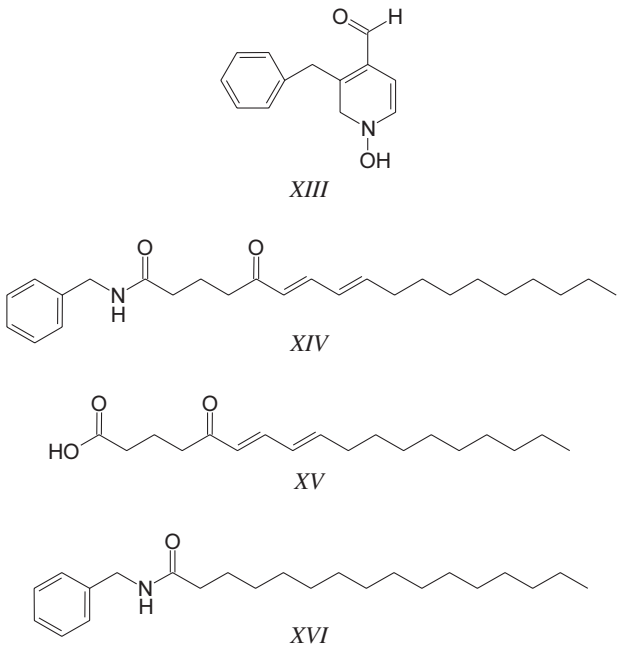


	R^1	R^2
I	H	H
II	CH_3O	H
XI	H	H

III *IV* *V* *VI*

XII *VII* *VIII* *IX* *X*

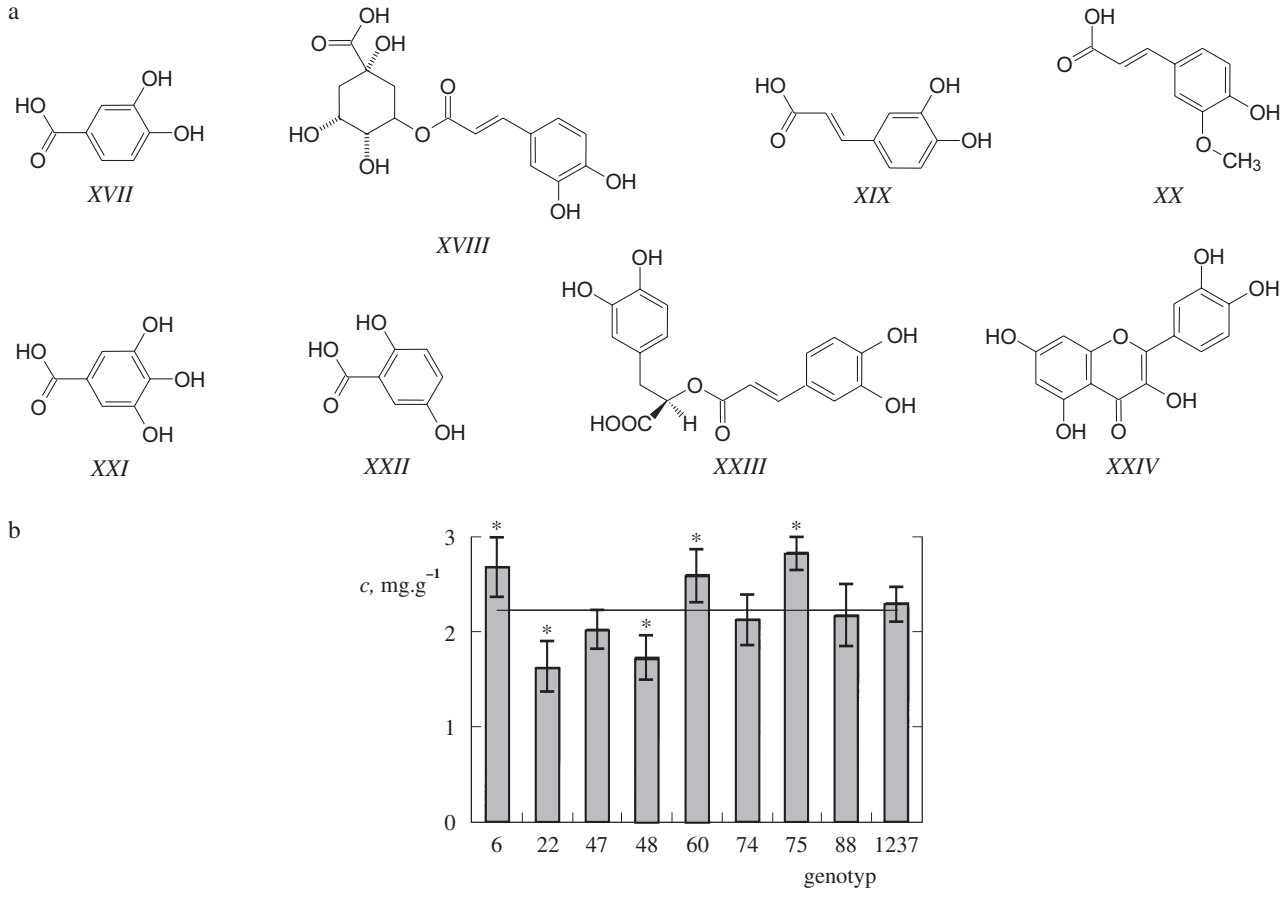
Obr. 4. **Benzylisothiokyanáty, glukosinoláty a (1*R*,3*S*)-1-methyl-1,2,3,4,4a,8a-hexahydro-9*H*-β-karbolin-3-karboxylová kyselina *XII***



Obr. 5. **Makaridin, makaeny a makamidy**

u zvířat, zejména potkanů a myší[28–31] a na kvalitu spermatu u lidských dobrovolníků[32]. Žádná z citovaných prací však neuvádí mechanismus účinku tohoto tradičního andského afrodiziaka a adaptogenu.

Informace o obsahových látkách v nadzemních částech jakonu, na rozdíl od jeho hlíz a maky, dosud v literatuře chybí, a proto jim byla věnována naše pozornost. Směsný vzorek listů jakonu byl sušen za pokojové teploty do konstantní hmotnosti. Byly připraveny extrakty z listů za použití několika extrakčních procedur a jako nejvhodnější byla vybrána extrakce methanolem v Soxhletově extraktoru, přičemž výsledný extrakt byl zahuštěn, dispergován ve vodě a odmaštěn extrakcí v petroletheru. Vodná vrstva byla posléze okyselena 0,1 M-H_2SO_4 a extrahována ethyl-acetátem. Výsledný ethyl-acetátový extrakt (celkový výtěžek po odpaření rozpouštědla cca 13 mg.g^{-1} suché drogy) byl použit pro vlastní analýzu. V extraktu byly identifikovány a kvantifikovány kyseliny protokatechová *XVII*, chlorogenová *XVIII*, kávová *XIX*, ferulová *XX*, galová *XXI*, gentisová *XXII* a ve formě glykosidu kyselina rozmarýnová *XXIII*; dále pak kvercetin *XXIV*, včetně jeho glykosidu a další čtyři neidentifikované komponenty[33–35] (obr. 6a). Deriváty kyseliny kávové a její estery kyseliny oktulosonové[37] byly nedávno nalezeny také v hlízách jakonu[35]. Fenolovým látkám prokázaným analýzou připisujeme pozorované antioxidační a cytoprotektivní účinky extraktů z listů jakonu[33,38].



Obr. 6. **Fenolové sloučeniny identifikované v listech jakonu a celkový obsah fenolových látek**; a – struktury, b – celkový obsah fenolových látek (mg.g^{-1} suché drogy) v genotypech jakonu pěstovaných v Olomouci–Holici (* $P < 0{,}01$)

V listech vybraných jednotlivých genotypů jakonu (sběr červenec 2002) byl analyzován celkový obsah fenolových látek. Suchá droga byla zpracována dle výše popsaného postupu a v extraktu byly tyto látky stanoveny Folino-Ciocalteauovým činidlem[39]. Výsledky stanovení, přepočítané na výchozí suchou drogu (obr. 6b), umožnily rozdělení analyzovaných klonů do tří skupin: *a*) hodnoty signifikantně vyšší než průměr (genotypy 6, 60 a 75), *b*) průměrné hodnoty (genotypy 47, 74, 88, 1237) a *c*) signifikantně podprůměrné hodnoty (genotypy 22 a 48). Zjištěné rozdíly v zastoupení fytochemicky významných látek však přímo nekorelovaly s polymorfismem isoenzymů ani morfotypů jakonu.

6. Technologie zpracování hlíz jakonu

Z hlediska dalšího zpracování se největším problémem stala nízká trvanlivost hlíz, které jsou velmi křehké, při sklizni se snadno poškodí, polámou, případně dochází k odření jejich tenké slupky. V místech poškození může snadno a rychle dojít k napadení plísněmi a projevům hniloby. Rovněž i v mechanicky nepoškozených hlízách dochází poměrně brzy k nežádoucím procesům. Hlízy ztrácejí vodu, stávají se gumovitými, postrádají typickou křupavost a dochází k podstatným změnám ve složení sacharidů[40], což je důležité z hlediska jejich uplatnění jako potraviny pro diabetiky. Zdraví prospěšné, ale nestravitelné β-oligofruktany hydrolyzují na glukosu a fruktosu, čímž upotřebení hlíz pro diabetiky klesá. Z těchto důvodů jsme se snažili vypracovat technologický postup zpracování hlíz jakonu do trvanlivé formy vhodné pro další použití. Hlavním cílem byla snaha zachovat vysoký obsah vody v hlízách jakonu a pokusit se o jeho zpracování na dřeň několika technologickými postupy. Rozváření používané při výrobě jablečné dřeně se neosvědčilo z důvodu špatné rozvářivosti hlíz. Navíc se při tomto postupu vyluhovalo velké množství sacharidů do varné tekutiny a výsledný produkt byl zcela nevhodný ze senzorického hlediska. Nezdarem skončil také pokus o zpracování hlíz v lince na výrobu špenátového protlaku. Při mletí dochází k oxidaci fenolových látek, a tím ke změně barvy suroviny z krémově bílé na nepříjemně hnědozelenou až hnědou. Mikrobiologická analýza takto zpracované suroviny navíc prokázala vysoký obsah koliformních bakterií. Vzhledem k těmto skutečnostem byl tento postup zpracování shledán rovněž jako nevyhovující. V laboratorním měřítku bylo dosaženo uspokojivého výsledku sušením pokrájených oloupaných hlíz podobně jako při domácí výrobě sušených jablek, a proto byl pro další zpracování zvolen tento způsob. Technologický postup byl následující: předmáčení hlíz, praní v pračce, parní loupání, praní v kartáčové pračce, kostkování, sprchování, předsušení (cca 12 min, 115 °C), sušení ve třech krocích (30 min při 107 °C, 95 min při 100 °C a 100 min při 75 °C). Výsledkem tohoto postupu byly lupínky o velikosti 2–3 mm. Poměr suchých lupínků k původní surovině je 1:9–1:8,5 a závisí zejména na původní velikosti hlíz vzhledem k odpadu při loupání. Lupínky jsou ve výsledné formě stabilní již téměř dva roky, jsou příjemně křupavé s nasládlou chutí. Také při tomto zpracování dochází k částečné změně barvy suroviny, ve formě lupínků však nepůsobí natolik nepříznivě. Lupínky byly použity pro analýzu základních nutričních složek, vybraných minerálů a kontaminantů (tabulka II) a pro analýzu složení cukrů[41].

7. Závěr

Z dosavadních poznatků je zřejmé, že jakon lze v našich podmínkách pěstovat bez větších problémů. Analýzou hlíz jakonu pěstovaného v České republice bylo zjištěno, že složení jeho obsahových látek se podstatně neliší od údajů nalezených v literatuře. Rozdíly zjištěné v zastoupení jednotlivých sacharidů byly nejspíše ovlivněny způsobem skladování a zpracování, neboť přítomné β-polyfruktany podléhají po sklizni hydrolytickým změnám.

V případě pěstování maky jsou výsledky méně příznivé. V opakovaných polních pokusech byly dosaženy jen relativně nízké výnosy, spojené s tvorbou drobných hypokotylů. Rovněž se ukazuje, že výnosy mohou významně kolísat mezi jednotlivými ročníky pěstování. V chemickém složení hypokotylů byly zjištěny významné rozdíly. Ve srovnání s komerčním vzorkem byl opakovaně zjištěn vyšší obsah bílkovin a nižší obsah sacharidů. Za negativní poznatek lze považovat vysokou kumulaci dusičnanů v hypokotylech, výraznou zejména ve sklizni z roku 2001, kdy maka byla pěstována na čerstvě vyhnojeném pozemku.

Z dosud získaných výsledků vyplynulo, že studované genotypy maky a jakonu vykazují značnou morfologickou, výnosovou i chemickou variabilitu, přičemž však u nich nebyla prokázána přímá závislost mezi jednotlivými sledovanými znaky. Hlubší poznání těchto souvislostí by mělo být předmětem dalšího výzkumu. V budoucnu se rovněž hodláme zaměřit zejména na studium variability obsahu jednotlivých sacharidů v hlízách různých genotypů jakonu ve vztahu k jejich morfologické variabilitě. Cílem takto zaměřeného výzkumu bude výběr vhodných genotypů z hlediska technologického zpracování (vliv tvaru hlíz) a jejich využití v potravních doplňcích a funkčních potravinách. U listů jakonu plánujeme dokončení identifikace obsahových látek, srovnání obsahu celkových fenolových látek v jednotlivých vývojových stádiích rostlin a pokračování testů biologické aktivity *in vitro* a *in vivo*.

Autoři děkují paní D. Vondrákové, I. Tiefenbachové a panu V. Všetičkovi za vynikající technickou spolupráci a Ing. Janu Frčkovi, CSc. za poskytnutí rostlinného materiálu a technologie pěstování. Výzkum je podporován projektem GA ČR (grant č. 303/01/0171).

LITERATURA

1. Frček J., Michl J., Pavlas J., Šupichová J., v knize: *Plant Genetic Resources* (Annual report 1995), str. 73. University of Agriculture in Nitra, Nitra 1995.
2. Frček J.: nepublikované výsledky.
3. Valentová K., Frček J., Ulrichová J.: Chem. Listy *95*, 594 (2001).
4. Quirós C. F., Cárdenas R. A., v knize: *Andean Roots and Tubers Ahipa, Arracacha, Maca and Yacon* (Hermann M., Heller J., ed.), str. 173. International Plant Genetic Resources Institute, Rome 1997.
5. Tyukavin G. B.: Selskoch. Biol. *3*, 81 (2002).
6. Lebeda A., Doležalová I., Dziechciarková M., Doležal K., Frček J.: *Využití molekulárních markerů v biologii, šlechtění a uchovávání genových zdrojů rostlin, Šumperk, 4.–6. listopad 2002*, str. 84.
7. Lebeda A., Doležalová I., Doležal K.: *XXVIth Internatio-*

nal Horticultural Congress and Exhibition (IHC2002), Toronto 11.–17. srpna 2002, Abstracts, str. 199.
8. Lebeda A., Doležalová I., Doležal K.: Acta Hort., v tisku.
9. Lebeda A., Doležalová I., Dziechciarková M., Doležal K., Frček J.: Czech J. Genet. Plant Breed. *439*, 1 (2003).
10. Echegeray M. P., v knize: *Resumenes de Curso Taller Internacional sobre Maca „Cultivo, aprovechamiento y conservación"* (Palomino M. E., ed.). Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), Lima 1999.
11. IBPGR: *Descriptors for Brassica and Raphanus*. International Board for Plant Genetic Resources, Rome 1990.
12. Murashige T., Skoog F.: Physiol. Plant. *15*, 473 (1962).
13. Kutina J.: *Regulátory růstu a jejich využití v zemědělství a zahradnictví*. SZN, Praha 1988.
14. Procházka S., Šebánek J.: *Regulátory rostlinného růstu*. Academia, Praha 1997.
15. Shepard J. F., Toten R. E.: Plant Physiol. *60*, 313 (1977).
16. Votruba et al.: *Explantátové techniky*, skripta VŠZ Praha, Praha 1987.
17. Gamborg O. L., Miller R. A., Ojima K.: Exp. Cell Res. *50*, 151 (1968).
18. Vallejos C. E., v knize: *Isozymes in Plant Genetics and Breeding, Part A* (Tanksley D. S., Orton T. J., ed.), str. 469. Elsevier, New York 1983.
19. Soltis D. E., Soltis P. S.: *Isozymes in Plant Biology*. Dioscorides Press, Portland 1989.
20. Manchenko G. P.: *Handbook of Detection of Enzymes on Electrophoretic Gels*. CRC Press, London 1994.
21. Dini A., Migliuolo G., Rastrelli L., Saturnino P., Schettino O.: Food Chem. *49*, 347 (1994).
22. Johns T.: J. Ethnobiol. *1*, 208 (1981).
23. Li G., Ammermann U., Quirós C. F.: Econ. Bot. *55*, 255 (2001).
24. Piacente S., Carbone V., Plaza A., Zampelli A., Pizza C.: J. Agric. Food Chem. *50*, 5621 (2002).
25. Muhammad I., Zhao J., Dunbar D. C., Khan I. A.: Phytochemistry *59*, 105 (2002).
26. Ganzera M., Zhao J., Muhammad I., Khan I. A.: Chem. Pharm. Bull. *50*, 988 (2002).
27. Tellez M. R., Khan I. A., Kobaisy M., Schrader K. K., Dayan F. E., Osbrink W.: Phytochemistry *61*, 149 (2002).
28. Cicero A. F. G., Bandieri E., Arletti R.: J. Ethnopharmacol. *75*, 225 (2001).
29. Cicero A. F. G., Piacente. S., Plasa A., Sala E., Arletti R., Pizza C.: Andrologia *34*, 177 (2002).
30. Gonzales G. F., Ruiz A., Gonzales C., Villegas L., Cordova A.: Asian J. Androl. *3*, 231 (2001).
31. Zheng B. L., He K., Kim C. H., Rogers L., Shao Y., Huang Z. Y., Qien L. C., Zheng Q. Y.: Urology *55*, 598 (2000).
32. Gonzales G. F., Cordova A., Gonzales C., Chung A., Vega K.: Asian J. Androl. *3*, 301 (2001).
33. Valentová K., Cvak L., Muck A., Ulrichová J., Šimánek V.: Eur. J. Nutr. *42*, 61 (2003).
34. Jirovský D., Horáková D., Kotouček M., Valentová K., Ulrichová J.: J. Sep. Sci. *26*, 739 (2003).
35. Muck A., Valentová K., Kohoutová J., Harmatha J., Ulrichová J., Šimánek V.: nepublikované výsledky.
36. Takenaka M., Yan X., Ono H., Mitsuru Y., Nagata T., Nakanishi T.: J. Agric. Food Chem. *51*, 793 (2003).
37. Takenaka M., Ono H.: Tetrahedron Lett. *44*, 999 (2003).
38. Valentová K., Ulrichová J.: nepublikované výsledky.
39. Singleton V. L., Rossi J. A.: Am. J. Enol. Vitic. *16*, 416 (1965).
40. Goto K., Fukai K., Hikida J., Nanjo F., Hara Y.: Biosci., Biotechnol., Biochem. *59*, 2346 (1995).
41. Valentová K., Přikrylová V., Křen V., Halada P., Ulrichová J., Šimánek V.: Chem. Listy *96*, 496 (2002).

A. Lebeda[a], I. Doležalová[a], K. Valentová[b], M. Dziechciarková[a], M. Greplová[c], H. Opatová[d], and J. Ulrichová[c]
([a]Department of Botany, Faculty of Science, Palacký University, Olomouc, [b]Institute of Medical Chemistry and Biochemistry, Faculty of Medicine, Palacký University, Olomouc, [c]Potato Research Institute Ltd., Havlíčkův Brod, [d]Department of Food Preservation and Meat Technology, Institute of Chemical Technology, Prague): **Biological and Chemical Variability of Maca and Yacon**

A set of 15 maca and 25 yacon genotypes cultivated under field conditions were assessed as to relationships between morphotypes of underground organs, yield parameters, and polymorphism of isozymes. *In vitro* cultivation and the content of some chemical compounds were also studied. Underground organs of both crops showed a wide variety strongly dependent on environmental factors. The results showed that maca forms small-weight hypocotyls. Differences in chemical composition compared with a commercial source were observed. The highest production (3.8 kg/plant) of yacon tubers was observed in four genotypes. Drying of yacon chips was found to be a good method of preservation. Of 17 analysed enzymatic systems, only esterases showed some degree of polymorphism in both crops, dividing genotypes of maca into two and yacon into six groups. Polymorphism of esterases does not correspond with morphological characters of underground organs of both crops or with total phenolic contents in different genotypes of yacon leaves. Screening of cultivation media demonstrated that concentration of regulators must be optimised to be suitable for *in vitro* cultivation of maca. The results showed that yacon can be successfully cultivated in Europe in contrast to maca.

NOMENKLATURA A TERMINOLOGIE

DOPORUČENÍ IUPAC
Glossary for Toxicokinetics of Chemicals

This glossary contains definitions of 355 terms frequently used in the multidisciplinary field of toxicokinetics. The glossary is compiled primarily for chemists who find themselves currently working in toxicology and requiring a knowledge of the expressions used in toxicokinetics, especially in relation to hazard and risk assessment. Medical terms are included because of their frequent occurrence in the toxicological literature and because chemists would not normally be expected to be familiar with them. There are three annexes, one containing a list of abbreviations used in toxicokinetics, one containing a list of abbreviations of international bodies and legislation that are relevant to toxicology and chemical safety, and one giving sources of interest for further reading.

Otiskujeme synopsi názvoslovného návrhu z oboru toxikologie, který byl připraven divizí IUPAC pro chemii a lidské zdraví. Návrh je určen k posouzení a kritice chemické veřejnosti. Zájemci o bližší informace či o texty návrhů se mohou obrátit na adresu Národního střediska IUPAC v České republice:

Ing. Jaroslav Kahovec, CSc.
Ústav makromolekulární chemie AV ČR
Heyrovského nám. 2
162 06 Praha 6
tel. 296 809 322, fax 296 809 410
e-mail: kah@imc.cas.cz

Návrh je též vystaven na webové stránce IUPAC na adrese: http://www.iupac.org/reports/provisional/index.html

Připomínky k návrhům je třeba zaslat do 30. září 2003 na adresu:

Prof. M. Nordberg
Institute of Environmental Medicine
Karolinska Institutet
SE-171 77 Stockholm, Sweden
tel. +[46] 8 728 7400, fax +[46] 8 314 124
e-mail: monica.nordberg@imm.ki.se

ZPRÁVY

UPOZORNĚNÍ PRO ČLENY SPOLEČNOSTI

Vážení kolegové,

dovolujeme si Vás upozornit, že dochází ke změnám v rozesílání Chemických listů – Bulletinu, tak jak bylo podrobně vysvětleno v úvodníku čísla 4/2003. Nebudou již rozesílány všem členům v rámci členského příspěvku. Pokud je budete chtít dostávat i nadále v papírové podobě, prosím obraťte se co nejdříve na sekretariát či redakci.

Sekretariát a redakce

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

STANOVENÍ VOLNÉHO A CELKOVÉHO KVERCETINU V MORAVSKÝCH ČERVENÝCH VÍNECH

EVA DADÁKOVÁ[a], NADĚŽDA VRCHOTOVÁ[b], JAN TŘÍSKA[b] a MARIE KYSELÁKOVÁ[c]

[a]Katedra chemie, Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích a [b]Ústav ekologie krajiny, Akademie věd České republiky, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, [c]Ústav posklizňové technologie zahradnických produktů, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 691 44 Lednice
e-mail: dadakova@zf.jcu.cz, nada@uek.cas.cz, triska@uek.cas.cz, kyselm@zf.mendelu.cz

Došlo 2.4.03, přepracováno10.4.03, přijato 19.4.03.

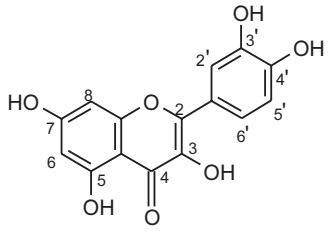
Klíčová slova: červená vína, kvercetin, HPLC, kapilární elektroforéza

Úvod

Flavonoidy jsou početně bohatou a pestrou skupinou přírodních polyfenolických látek výhradně rostlinného původu. Podle struktury se dělí na několika skupin a mezi nejznámější zástupce patří flavonoly, katechiny a anthokyany. Vyskytují se přirozeně v ovoci, zelenině, ořechách a semenech, a tak jsou nedílnou složkou lidské potravy. Flavonoidy vykazují mnoho pozoruhodných a pro člověka zajímavých biologických účinků. V prvé řadě fungují jako účinné antioxidanty a jsou schopny zachytávat reaktivní radikály. Mohou vytvářet cheláty s dvojvaznými prooxidačně působícími ionty kovů, zejména Fe a Cu. Nezanedbatelné jsou také jejich účinky antibakteriální a virostatické, protizánětlivé a vazodilatační. Antioxidačně působící flavonoidy ochraňují krevní lipidy, zejména frakci LDL, před oxidací a zabraňují tak vzniku aterosklerózy a trombotických onemocnění[1]. Je prokázáno, že dostatečný příjem flavonoidů a ostatních polyfenolů vyváženou stravou je spojen s nižším výskytem onemocnění srdce a cév[2].

Z velkého počtu přírodních flavonoidů se ve významnějších koncentracích v přírodním materiálu vyskytuje jen několik. Mezi ně patří flavonol kvercetin (obr. 1). Jeho antioxidační schopnosti jsou díky jeho chemické struktuře mimořádné[3] a je účinnějším antioxidantem než vitamíny C a E. Na druhé straně je nutno říci, že některé flavonoidy, a mezi nimi i kvercetin, vykazují nejen antioxidační aktivitu, ale v některých případech i aktivitu prooxidační. Podle nejnovějších výzkumů se zdá, že alkylace hydroxyskupiny v poloze 7 zvyšuje záchyt radikálů a naopak kvercetin a jeho deriváty s volnými hydroxyskupinami mající v části molekuly strukturu pyrokatechinolu a navíc s volnou hydroxyskupinou v poloze 3 mohou za určitých okolností vykazovat prooxidační aktivitu[4]. Pro zablokování této aktivity by neměla být posledně zmíněná hydroxyskupina volná, jako je tomu např. u rutinu, jehož konzumace by tedy byla výhodnější. Otázkou také je, kolik volného kvercetinu zůstává např. v krevní plazmě po jeho přijetí potravou či nápoji. Ve studii publikované v poslední době zjistili autoři[1], že po podání kvercetinu jako přídavku do bílého vína a ovocného, nebo zeleninového džusu pokusným osobám v dávce 25 mg na 70 kg váhy, se maximum obsahu konjugátů kvercetinu objevilo v krevní plazmě již 30 min po podání, přičemž podíl volného kvercetinu činil cca 20 %. Kvercetin je v rostlinném materiálu obvykle vázán na některý sacharid a vytváří tak glykosidy, které jsou rozpustnější ve vodě a stabilnější. Volný kvercetin se může vyskytovat v potravinách po některých technologických úpravách, jako je například konzervace v kyselém prostředí a mikrobiální postupy[5].

Červené víno je bohatým zdrojem flavonoidů a ostatních polyfenolických látek a jejich obsah závisí na odrůdě révy, podmínkách pěstování révy a technologii výroby vína. V červeném víně se vyskytují zejména anthokyany vytvářející typickou barvu vína, katechiny, kvercetin ve volné a glykosidicky vázané formě a příbuzný derivát stilbenu, resveratrol. Právě tyto látky jsou z hlediska svých antioxidačních schopností hodnoceny jako nejcennější. Alkohol, kterého víno obsahuje v průměru 12 %, bývá také spojován s kladnými účinky vína na lidský organismus[6]. Výživa, která je bohatá na přírodní antioxidanty, působí příznivě při prevenci tzv. civilizačních chorob jako jsou např. onemocnění srdce a cév. Ta jsou jednou z nejčastějších příčin úmrtí. Umírněná konzumace vína, zejména červeného, je spojována s poklesem výskytu onemocnění srdce a cév. Je zřejmé, že za tento efekt je odpovědný souhrn fenolických látek obsažených ve víně. Z biologicky aktivních flavonoidů červeného vína byly dosud zkoumány zejména katechiny a resveratrol, údajů o obsahu kvercetinu ve víně je méně. Výzkum fenolických látek v červených vínech probíhá zejména ve státech s dlouhou tradicí výroby vína. U nás byla sledována moravská červená vína[7–10], méně pak vína české provenience[8,11] a většinou byl měřen obsah resveratrolu, u některých pak obsah katechinu, epikatechinu a gallové kyseliny[10]. Data o obsahu kvercetinu v českých a moravských vínech chybí zcela.



Obr. 1. **Strukturní vzorec kvercetinu**

Experimentální část

Materiál

Všechna vína pocházela ze čtyř vinařských oblastí moravského regionu a měla jakostní stupně: jakostní, pozdní sběr a výběr z hroznů. Obsah volného a celkového kvercetinu byl stanovován v 10 vzorcích 5 odrůd z roku 2000 a v 13 vzorcích 8 odrůd z roku 2001.

Použité chemikálie

Acetonitril a methanol (LiChrosolv, Merck), trifluoroctová kyselina (TFA) a 1-naftyloctová kyselina (Fluka), SPE kolonky RP-18 (LiChrolut, Merck), borax a SDS (Sigma), kyselina boritá, HCl a $NaHCO_3$ (Lachema Brno), kyselina L-askorbová (Merck), kvercetin (Aldrich).

Přístroje

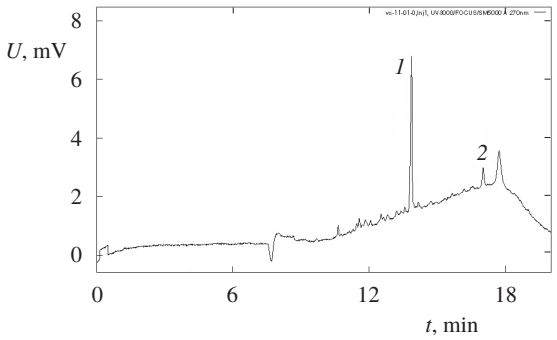
HPLC: kapalinový chromatograf HP 1050 (Hewlett-Packard, USA), kolona C18, 3 μm, 2×150 mm (Luna Phenomenex, USA), detektor s diodovým polem (HP 1040, Hewlett-Packard, USA). Nastřikovaný objem byl 5 μl.

Kapilární elektroforéza: Spectra Phoresis 2000 (Thermo Separation Product, Fremont, USA), křemenná kapilára Celest FS 75, 70 cm × 75 μm (Supelco).

Metodika

Stanovení celkového obsahu kvercetinu ve víně

Směs 2,5 ml vzorku, 12,5 ml methanolu, 5 ml 6 M-HCl, 5 ml redestilované vody a 80 mg kyseliny askorbové byla hydrolyzována pod zpětným chladičem 2 hodiny na vodní lázni při teplotě 90 °C. Po ochlazení byl hydrolyzát zneutralizován 2 g $NaHCO_3$ a převeden 12,5 ml methanolu a 100 ml vody do kádinky na 600 ml. Kyselost hydrolyzátu byla upravena roztokem $NaHCO_3$ na hodnotu pH 3. Hydrolyzát byl doplněn vodou na objem 500 ml a prolit kolonkou (předem kondicionovanou 10 ml methanolu a 10 ml vody) rychlostí zhruba 15 ml za minutu. Poté byla kolonka promyta 10 ml vody a sušena 15 minut procházejícím vzduchem. Kvercetin byl z kolonky eluován 1,4 ml methanolu. K eluátu bylo přidáno 0,1 ml roztoku vnitřního standardu (2 $mg.ml^{-1}$ 1-naftyloctové kyseliny v methanolu). Vzorky byly měřeny na kapilární elektroforéze (obr. 2). Pracovní pufr: 10 mM boraxu, 10 mM kyseliny borité, 20 mM SDS, 15% (v/v) methanolu, pH 9,2. Podmínky analýzy: 25 °C, 20 kV, detekce analytu při 270 nm, hydrodynamický nástřik 2 s.



Obr. 2. **Typický elektroforeogram hydrolyzátu červeného vína**; *1* – vnitřní standard, *2* – kvercetin

Jako analytická odezva byl brán poměr ploch píků kver-

Tabulka I
Obsah kvercetinu v červených moravských vínech

Vzorek	Odrůda	Jakostní stupeň	Oblast	Producent	Obsah kvercetinu [$mg.l^{-1}$]			
					2000		2001	
					volný	celkový	volný	celkový
1	Zweigeltrebe	jakostní	velkopavlov.	Révovín	5,02	15,79	1,23	4,49
2	Svatovavřinecké	jakostní	velkopavlov.	Révovín	4,40	9,60	1,27	4,59
3	Frankovka	jakostní	velkopavlov.	Révovín	3,08	12,00	1,59	5,16
8	Svatovavřinecké	pozdní sběr	velkopavlov.	Baloun	n.d.[a]	2,40	n.d.[a]	2,73
9	Frankovka	výběr z hroznů	velkopavlov.	Baloun	n.d.[a]	2,53	n.d.[a]	1,39
10	Zweigeltrebe	jakostní	strážnická	Blatel	[b]	[b]	0,25	2,25
11	André	jakostní	strážnická	Blatel	[b]	[b]	0,98	4,90
12	Svatovavřinecké	jakostní	strážnická	Blatel	[b]	[b]	0,99	6,81
13	Rulandské modré	jakostní	strážnická	Blatel	5,34	15,18	1,37	6,86
15	Svatovavřinecké	výběr z hroznů	znojemská	Vin. skl. Lech.	n.d.[a]	[b]	1,17	3,26
16	Frankovka	pozdní sběr	znojemská	Vin. skl. Lech.	n.d.[a]	1,77	0,98	5,61
17	Rulandské modré	jakostní	znojemská	Forman	1,30	7,71	[b]	[b]
18	Frankovka	jakostní	brněnská	Forman	3,95	7,96	1,45	5,29
19	Svatovavřinecké	jakostní	brněnská	Forman	1,30	9,32	0,53	2,34

[a] n.d. – pod mezí detekce, [b] vzorek nebylo možno získat

Tabulka II
Hodnoty publikovaných obsahů volného a celkového kvercetinu ve vínech

Druh vína	Země původu	Kvercetin [mg.l^{-1}]		Lit.
		volný	celkový	
Červené 1990		nestanoveno	4,1–16	2
Bílé 1990		nestanoveno	<0,5	2
Červené[a]		0,1–15,8	1,2–21,8	15
Červené	Bulharsko	0,7–4,5	2,1–7,7	16
1995, 1997	Španělsko	12,6–43,1[b]	nestanoveno	12
1999	Španělsko (Kanárské ostr.)	8,45–25,57	nestanoveno	13

[a] Dosud nejrozsáhlejší publikovaný soubor, [b] nejvyšší publikovaná hodnota

cetinu a vnitřního standardu. Kvantifikace obsahu byla provedena kalibrací. Výtěžnost kvercetinu z materiálu se pohybovala pro různé typy vzorků v rozmezí 64 až 96 % a byla stanovena pro každý vzorek zvlášť metodou standardního přídavku. Detekční limit byl 0,3 mg.l^{-1}. Rozšířená nejistota postupu s koeficientem rozšíření 2 byla odhadnuta z rozboru dílčích nejistot jednotlivých kroků metody a činila 15 %.

Stanovení volného kvercetinu

Volný kvercetin byl stanoven pomocí HPLC, vzorek vína byl aplikován bez jakýchkoli úprav. Byla použita gradientová eluce (Mobilní fáze A: 5% acetonitril + 0,15% TFA. Mobilní fáze B: 80% acetonitril + 0,15% TFA, voda do 100 %. Gradient: 25% B – 50% B, 20 min. Průtok: 2 ml.min^{-1}. Detekce při 250 nm (záznam snímán v rozsahu 190–600 nm). Detekční limit 0,1 mg.l^{-1}).

Výsledky a diskuse

Naměřené obsahy volného a celkového kvercetinu jsou uvedeny v tabulce I. Z této tabulky je zřejmé, že obsah volného kvercetinu se u měřeného souboru vzorků vín pohybuje v rozmezí od 0,25 mg.l^{-1} do 5,34 mg.l^{-1}, obsah celkového kvercetinu pak od 1,39 mg.l^{-1} do 15,79 mg.l^{-1}. Uvedené hodnoty můžeme porovnat s hodnotami publikovanými v literatuře, jejichž přehled je uveden v tabulce II. Porovnáním námi naměřených hodnot s dosud největším naměřeným souborem 65 vzorků vín uvedeným v řádku 3 tabulky II můžeme říci, že se moravská vína nacházejí asi v první polovině hodnot tohoto souboru a nijak významně nevybočují z řady. Na druhé straně jsou zřetelné poněkud vyšší hodnoty u španělských vín[12,13]. Z hlediska ročníku pak můžeme konstatovat, že s výjimkou dvou vzorků je u ostatních hodnot obsahu jak volného tak celkového kvercetinu zcela patrná tendence k vyšším hodnotám u ročníku 2000. Autoři zabývající se vlivem slunečního záření na obsah některých fenolických látek v hroznech a ve víně prokázali[14], že intenzita slunečního záření je určujícím faktorem pro obsah jak glykosylovaného, tak volného kvercetinu. Z námi sebraných klimatologických dat pro vystoupení na XXVIIth World Congress of Vine and Wine [9] vyplývá, že rok 2000 byl bohatší na sluneční záření a tento fakt může být tedy jeden z důvodů vyššího obsahu obou forem kvercetinu.

Tato studie byla vypracována v rámci projektu NAZV QD 1155 „Vliv suroviny a technologie zpracování na obsah zdravotně prospěšných polyfenolických látek v révových vínech“ a MSM 122200002/2. Autoři děkují dále RNDr. J. Totuškovi, CSc., Ing. J. Veverkovi a Ing. J. Balíkovi, PhD. za zajištění vzorků měřených vín.

LITERATURA

1. Goldberg D. M., Yan J., Soleas G. J.: Clin. Biochem. *36*, 79 (2003).
2. Hertog M. G. L., Hollman P. C. H., van de Putte B.: J. Agric. Food Chem. *41*, 1242 (1993).
3. Cook N. C., Samman S.: J. Nutr. Biochem. *7*, 66 (1996).
4. Kessler M., Ubeaud G., Jung L.: J. Pharm. Pharmacol. *55*, 131 (2003).
5. Davídek J., Janíček G., Pokorný J.: *Chemie potravin*. SNTL, Praha 1983.
6. Frankel E. N., Kanner J., German J. B., Parks E., Kinsella J. E.: Lancet *341*, 454 (1993).
7. Totušek J., Vrchotová N., Tříska J., Marečková L.: Chem. Listy *94*, 973 (2000).
8. Kolouchová-Hanzlíková I., Melzoch K., Filip V., Šmidrkal J.: *Vitamins 2002, Pardubice, 3.–5. září 2002*, sborník konference (Blatná J., Horna A., Zima T., ed.), str. 173. Univerzita Pardubice, Pardubice 2002.
9. Tříska J., Kyseláková M., Totušek J., Vrchotová N., Lefnerová N., Balík J., Veverka J.: *XXVIIth World Congress of Vine and Wine, Bratislava, 24–28 June 2002*, str. 126.
10. Tříska J., Kyseláková M., Totušek J., Vrchotová N., Lefnerová N., Balík J., Veverka J.: *XXVIIth World Congress of Vine and Wine, Bratislava, 24–28 June 2002*, str. 125.
11. Hanzlíková I., Melzoch K., Filip V., Buckiová D., Šmidrkal J.: *Proc. EUROFOODCHEM XI, Norwich, 26–28 September 2001* (Pfannhauser W., Fenwick G. R., Khokhar S., ed.), str. 220.
12. Viñas P., López-Erroz C., Marín-Hernández J. J., Hernández-Córdoba M.: J. Chromatogr., A *871*, 85 (2000).

13. Rodríguez-Delgado M.-Á., González-Hernández G., Conde-González J.-E., Pérez-Trujillo J.-P.: Food Chem. *78*, 523 (2002).
14. Price S. F., Breen P. J., Valladao M., Watson B. T.: Am. J. Enol. Vitic. *46*, 187 (1995).
15. Mc Donald M. S., Hughes M., Burns J., Lean M. E. J., Metthews D., Crozier A.: J. Agric. Food Chem. *46*, 368 (1998).
16. Tsanova-Savova S., Ribarova F.: J. Food Comp. Anal. *15*, 639 (2002).

E. Dadáková[a], N. Vrchotová[b], J. Tříska[b], and M. Kyseláková[c] *([a]Department of Chemistry, Faculty of Agriculture, University of South Bohemia, České Budějovice, [b]Institute of Landscape Ecology, Academy of Sciences of the Czech Republic, České Budějovice, [c]Department of Postharvest Technology of Horticultural Products, Faculty of Horticulture, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Lednice):* **Determination of Free and Conjugated Quercetin in Moravian Red Wines**

Free and conjugated quercetin in Moravian red wines were determined after acid hydrolysis. The measured concentrations are in agreement with most published data in the literature. The comparison of vintage years 2000 and 2001 revealed increased concentrations of both quercetin types in 2000, which could be a consequence of a longer sunshine period in that year.

PRODÁM KOMPLETNÍCH 31 ROČNÍKŮ

Journal of Chemical Education (1964 až 1995)

ZA NABÍDNUTOU CENU

Prof. Josef Pacák (pacak@natur.cuni.cz)

ODSTRAŇOVÁNÍ AMONIAKU Z ODPADNÍCH PLYNŮ ADSORPCÍ NA ZEOLITECH A JEJICH NÁSLEDNÉ VYUŽITÍ V ZEMĚDĚLSTVÍ

LENKA MELENOVÁ[a], KAREL CIAHOTNÝ[a], HANA JIRGLOVÁ[a], HELENA KUSÁ[b] a PAVEL RŮŽEK[b]

[a]Ústav plynárenství, koksochemie a ochrany ovzduší, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, [b]Odbor výživy rostlin, Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha 6
e-mail: Lenka.Melenova@vscht.cz, Karel.Ciahotny@vscht.cz, ruzek@vurv.cz, kusa@vurv.cz

Došlo 13.7.02, přepracováno 25.11.02, přijato 6.2.03.

Klíčová slova: čištění plynu, emise amoniaku, zeolity, dusík

Úvod

Amoniak je jedním z běžných polutantů vyskytujících se v ovzduší. Dostává se sem jak z přírodních (rozklad těl uhynulých organismů a rostlin), tak z antropogenních zdrojů (průmyslová činnost, zemědělství, apod.). Světové emise amoniaku jsou vyčísleny na 22 až 35 mil. t za rok (cit.[1]). Z přírodních zdrojů však pocházejí pouze 1 až 2 mil. t za rok, většina amoniaku je emitována do ovzduší v důsledku antropogenní činnosti. Největší podíl mezi antropogenními zdroji emisí amoniaku má zemědělská živočišná výroba (20 až 30 mil. t za rok), fosilní paliva se naproti tomu podílejí na emisích amoniaku pouze asi 100 000 t za rok a automobilová doprava asi 300 000 t za rok.

Jednou z možností čištění odpadního vzduchu obsahujícího amoniak je použití adsorpční technologie čištění s náplní vhodného adsorbentu. Pro svou jednoduchost a nenáročnost na obsluhu je adsorpční technologie vhodná také pro aplikaci k čištění odpadního vzduchu z chovů hospodářských zvířat. Adsorpčními materiály jsou především aktivní uhlí a zeolity. Pro značně vyšší cenu uhlíkatých adsorpčních materiálů jsou čím dál tím častěji zkoumány adsorpční metody využívající zeolity. Zeolity mají velmi široké použití v ochraně životního prostředí, které vyplývá z jejich základních vlastností. Mezi tyto vlastnosti patří schopnost selektivně adsorbovat molekuly plynů a par, schopnost vratně adsorbovat a desorbovat vodu, či vyměňovat vlastní kationty za jiné na základě iontové selektivity. Při pohlcování nepříjemných pachů ve vnitřním prostředí (nemocniční oddělení onkologie, JIP, dialýzy apod.) se již úspěšně využívá zeolito-uhlíkatých filtrů. Zeolity jako adsorpční materiály lze nalézt také při dělení permanentních plynů metodou PSA (pressure – swing adsorption). Této metody se využívá při získávání kyslíku a dusíku ze vzduchu nebo při zlepšování vlastností zemního plynu a methanu, kdy zeolity sorbují z plynu vodní páru, CO_2 a SO_2 (cit.[2]). Dále se zeolity využívají při obohacování vzduchu kyslíkem, neboť se vyznačují zvýšenou afinitou pro molekulární dusík[3]. Iontově-výměnných vlastností se využívá především v záměně sodných iontů za ionty amonné[4]. Amonné ionty se také účinně odstraňují pomocí zeolitů z odpadních či pitných vod, kde zeolity mohou být využívány jednak při chemické filtraci, nebo mohou sloužit jako substrát při biologickém čištění. Jako biofiltry poskytují vhodné životní prostředí pro růst bakteriálních kultur, které redukují NH_4^+ na NH_3 (cit.[5]). V zemědělství se zeolity přidávají do podestýlek hospodářských i domácích zvířat nebo též do krmných směsí.

Při použití zeolitů jako adsorbčních materiálů pro zachycování NH_3 je možné sorbent nasycený amoniakem využít jako zdroj dusíku v rostlinné výrobě.

Teoretická část – vlastnosti přírodního zeolitu klinoptilolitu

Klinoptilolit je jedním z běžně se vyskytujících přírodních zeolitů s širokým technickým uplatněním. Patří do skupiny heulanditu[6]. Jeho vnitřní porézní struktura je tvořena dvojrozměrným systémem tří typů kanálů. Dva z nich jsou vymezeny osmičlennými kyslíkatými kruhy, třetí typ kanálků obsahuje desetičlenný kyslíkatý kruh. Mezi jednotlivými atomy kyslíku se vždy nachází centrální atom stavební jednotky tetraedru (Si nebo Al). Chemické složení klinoptilolitu je možné vyjádřit následujícím vzorcem:

$$(K_2, Na_2, Ca)O \cdot Al_2O_3 \cdot 10\ SiO_2 \cdot 8\ H_2O$$

Významné ložisko klinoptilolitu se nachází na východním Slovensku poblíž obce Nižný Hrabovec[7,8]. Délka tohoto ložiska je odhadována na 7 km, mocnost vrstvy zeolitu, který se nachází těsně pod zemským povrchem, je asi 100 m. Využitelné zásoby zeolitu v tomto ložisku byly vyčísleny asi na 7 mil. tun.

Dominantními kationty nacházejícími se v kanálové struktuře klinoptilolitu jsou K^+ a Ca^{2+}, které je možné různými postupy z kanálové struktury částečně odstranit a tím modifikovat adsorpční vlastnosti zeolitu. Známé jsou postupy využívající kationtovou výměnu s převedením do sodné formy, nebo dekationizace minerálními kyselinami (kyselá forma). Při použití klinoptilolitu jako adsorpčního materiálu s následně možnou aplikací v zemědělství se jako nejlepší jeví metoda impregnace minerálními kyselinami. Tím je možné do struktury zeolitu zabudovat i další biogenní prvek a též navýšit adsorpční kapacitu, protože se kromě fyzikální sorpce v některých případech uplatní i chemisorpce.

Adsorpční či retenční schopnost klinoptilolitu, afinita vůči kationtům živin (zvláště NH_4^+, K^+) či stopových prvků (např. Co^{2+}, Cu^{2+}, Mn^{2+}, Zn^{2+}) je využívána i v rostlinné výrobě. Zeolity díky těmto vlastnostem pomáhají vytvářet příznivé vlhkostní a živinné podmínky v okolí kořenů rostlin, což se projevuje např. nárůstem výnosů plodin pěstovaných na půdách obohacených zeolity. Zeolity jsou označovány jako půdní kondicionéry a pozitivně ovlivňují některé fyzikálně-chemické vlastnosti půdy (pH, nárůst hodnot kapilární vodní či kationtově-výměnné kapacity, apod.)[9].

Experimentální část

Adsorpce amoniaku

Na pracovišti Ústavu plynárenství, koksochemie a ochrany ovzduší VŠCHT Praha bylo provedeno testování různých adsorpčních materiálů vhodných pro zachycování amoniaku z odpadního plynu a porovnání z hlediska výkonu (adsorpční kapacity pro amoniak) a ceny. K testování byly použity mimo klinoptilolitu i adsorbenty na bázi aktivního uhlí SS4 – P (Chemviron-Carbon, vyráběn speciálně pro záchyt amoniaku), zeolitová molekulová síta 5A a 13X (PROCATALYSE Usine de Salindres), adsorbent KS Trockenperlen na bázi silikagelu (Engelhard Process Chemicals) i směsný adsorbent KC Envisorb B na bázi směsi aktivního uhlí se silikagelem (Engelhard Process Chemicals). Z testovaných materiálů se k adsorpci amoniaku velmi osvědčil přírodní zeolit – klinoptilolit, který po chemické úpravě minerálními kyselinami dosahoval srovnatelných adsorpčních kapacit s dosud průmyslově často používaným aktivním uhlím. Tohoto zvýšení adsorpční kapacity bylo docíleno vymytím některých kationtů při impregnaci zeolitu a zároveň převedením klinoptilolitu do kyselé formy.

Tabulka I
Zastoupení hlavních oxidů v přírodním klinoptilolitu z naleziště Nižný Hrabovec, po jeho impregnaci H_3PO_4 a po promytí destilovanou H_2O (RTG fluorescenční analýza)

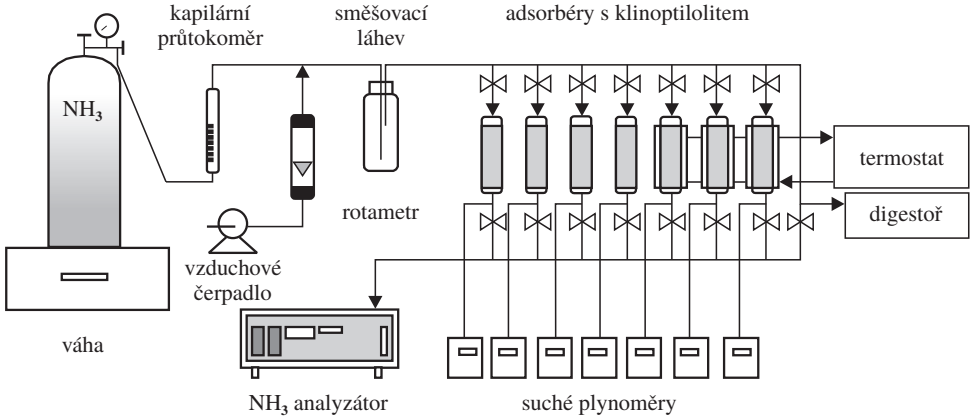
Složka	Klinoptilolit, obsah oxidu [hm.%]		
	přírodní	impregnovaný	impregnovaný po promytí H_2O
SiO_2	75,62±0,21	76,23±0,21	67,09±0,23
Al_2O_3	14,35±0,18	13,57±0,17	12,56±0,17
Fe_2O_3	1,42±0,06	1,44±0,06	1,26±0,06
CaO	3,48±0,09	2,92±0,08	2,85±0,08
K_2O	3,51±0,09	2,74±0,08	2,52±0,08
Na_2O	0,242±0,03	0,244±0,03	0,327±0,03
MgO	0,707±0,04	0,658±0,04	0,586±0,04
TiO_2	0,332±0,03	1,25±0,06	0,179±0,02
P_2O_5	0,045±0,01	0,544±0,04	12,32±0,16

Zastoupení hlavních oxidů v přírodním klinoptilolitu z ložiska Nižný Hrabovec stanovené metodou RTG fluorescenční analýzy uvádí tabulka I. V téže tabulce je také zaznamenáno chemické složení přírodního klinoptilolitu impregnovaného 40% H_3PO_4 a dále složení takto upraveného vzorku po promytí destilovanou H_2O (do neutrální reakce). Další fyzikální vlastnosti klinoptilolitu uvádí tabulka II.

K testování adsorpce amoniaku z modelové směsi plynů byla zvolena průtočná aparatura. K měření koncentrací NH_3 v plynu před i za adsorbérem byl použit kontinuálně pracující IR-analyzátor od firmy Horiba. Adsorpce byla sledována za různých provozních podmínek blízkých podmínkám ve stájích pro chov hospodářských zvířat. Byl sledován především vliv koncentrace amoniaku ve vzduchu, vlhkosti vzduchu (laboratorní vlhkost, zcela suchý vzduch a vlhký vzduch s 95% relat. vlhkosti), teploty adsorpce (20, 35 a 50 °C) a předúpravy adsorbentu (aktivace zahřátím na teploty vedoucí k desorpci vody z kanálové struktury zeolitu, tj. 250 °C po dobu 2 h) na adsorpční kapacitu pro amoniak. Úbytek hmotnosti vzorku během aktivace způsobený z větší části desorpcí vody činil asi 8 %. V další fázi laboratorních pokusů pak byly provedeny různé úpravy klinoptilolitu za použití minerálních kyselin (kyseliny sírové, kyseliny fosforečné a kyseliny dusičné) s cílem zvýšit adsorpční kapacitu pro amoniak. Impregnace vzorků zeolitu kyselinami spočívala v namočení vzorku zeolitu do příslušné kyseliny (maximální koncentrace až 40 %) po určitou dobu, evakuaci směsi kyseliny se zeolitem za účelem vypuzení adsorbovaných plynů z porézní struktury zeolitu, ná-

Tabulka II
Některé fyzikální vlastnosti klinoptilolitu z naleziště Nižný Hrabovec

Parametr	Hodnota
Skutečná (He) hustota	1960 $kg.m^{-3}$
Zdánlivá hustota	1590 $kg.m^{-3}$
Sypná hmotnost	830 $kg.m^{-3}$
Porozita	0,19
Mezerovitost	0,49
BET-povrch	26 $m^2.g^{-1}$
Objem adsorpčních pórů	0,093 $cm^3.g^{-1}$



Obr. 1. **Schéma pokusné aparatury**

sledném odfiltrování zeolitu a jeho vysušení ve vakuové sušárně při teplotě 135 °C.

Laboratorní aparatura pro sledování adsorpce amoniaku z modelové směsi se vzduchem se skládá ze tří hlavních částí: části pro přípravu modelové směsi, adsorbérů s možností nastavení teploty adsorpce v rozmezí 20 až 50 °C a analyzátoru pro měření koncentrace amoniaku v připravené modelové směsi i ve vyčištěném vzduchu odcházejícím z jednotlivých adsorbérů. Aparatura je schématicky znázorněna na obr. 1.

Modelová směs je v aparatuře připravována mícháním vzduchu nasávaného membránovým vibračním čerpadlem o výkonu 3,5 $m^3.h^{-1}$ a amoniaku odebíraného z tlakové láhve. Průtok vzduchu je měřen rotametrem, průtok amoniaku pak kapilárním diferenčním tlakovým průtokoměrem. Láhev s amoniakem je umístěna na digitálních vahách umožňujících sledovat úbytek hmotnosti (dávkovaného množství amoniaku). Po homogenizaci obou složek dále postupuje směs vzduchu s amoniakem do soustavy paralelně zapojených skleněných adsorbérů o vnitřním průměru 22 mm a délce adsorpční vrstvy cca 150 mm. Průtok plynné směsi jednotlivými adsorbéry je měřen suchými plynoměry. Přebytek plynné směsi je odváděn do digestoře.

Některé z adsorbérů jsou vybaveny dvojitým pláštěm umožňujícím temperování adsorbentu na vyšší teplotu (až 50 °C). Na výstup z každého adsorbéru i do proudu přebytečné plynné směsi odváděné do digestoře je možné připojit kontinuálně pracující IR-analyzátor obsahu amoniaku v plynech od firmy Horiba. Aparatura umožňuje současné testování až 7 vzorků adsorbentů za podobných podmínek. Výsledkem měření jsou porovnatelné průnikové křivky amoniaku zjištěné při použití jednotlivých testovaných adsorbentů. Z těchto průnikových křivek je možné bilancí amoniaku na vstupu a výstupu z jednotlivých adsorbérů vypočítat jeho zachycené množství do doby průrazu amoniaku za adsorbér i při úplném nasycení adsorbentu do rovnováhy, kdy dojde k vyrovnání koncentrací amoniaku v modelovém plynu před a za adsorbérem.

Při sledování vlivu vlhkosti vzduchu na adsorpci amoniaku byl vzduch nasávaný membránovým čerpadlem nejdříve sušen v třístupňovém sušícím systému (jeden vymražovací stupeň s chladící lázní methanol–suchý led a dva adsorpční stupně s molekulovým sítem Baylit TE G 273) a poté byl použit k přípravě modelové směsi. Účinnost sušení dosahovala po celou dobu pokusu takových hodnot, že koncentrace vodní páry ve vysušeném vzduchu nepřesáhla hodnotu 0,1 $g.m^{-3}$.

Při pokusech s vlhkým vzduchem byl sušící systém nahrazen velkoobjemovou promývací láhví (objem 20 dm^3) naplněnou zhruba do poloviny destilovanou vodou. Vzduch probublávající vrstvou vody tak byl nasycen na relativní vlhkost v rozmezí od 90 do 95 % (15–17 g vodní páry na 1 m^3 vzduchu).

U testovaných vzorků klinoptilolitu upraveného kyselinami bylo stanovováno pH ve vodném výluhu. Analýza vodného výluhu byla prováděna po 24 hodinovém třepání směsi 5 g vzorku v 50 ml destilované vody. K měření byl použit ATC pH metr Picolo – typ HI 1280, nastavený na kalibrační roztoky: hydrogen-vinan draselný – nasycený roztok (pH 3,557) a borax (pH 9,180).

Vzhledem k nestabilitě zeolitů v kyselém prostředí byly vzorky klinoptilolitu před a po impregnaci 40% H_3PO_4 podrobeny analýze metodou práškové RTG difrakce. Měření bylo provedeno na práškovém difraktometru Dron za následujících parametrů měření – Co lampa (λ = 1,7921 Å), 35 kV, 25 mA, krok měření 0,02°, 2 theta, rychlost měření 1°.min^{-1}.

Využití nasyceného sorbentu jako zdroje živin

Agrochemické účinky vybraných vzorků klinoptilolitu byly testovány v nádobovém pokusu. Testované varianty byly čtyři, každá ve třech opakováních: kontrola (= samotná půda); půda s přídavkem přírodního klinoptilolitu; půda s přídavkem přírodního klinoptilolitu nasyceného amoniakem a půda s přídavkem klinoptilolitu impregnovaného před sorpcí amoniaku 40% H_3PO_4. Množství zeolitů přidaná do půdy odpovídala aplikaci dávky dusíku 300 $mg.kg^{-1}$ sušiny půdy (tj. 33,8 nebo 13,9 g zeolitu na kg půdy), přírodní zeolit bez dusíku byl přidán ve výši z obou dávek, aby byl případný účinek materiálu prokazatelnější.

Přesné navážky zeolitů i půdy (2,4 kg na nádobu) byly pečlivě zhomogenizovány (zvlášť do jednotlivých nádob). Testovací plodinou byla hořčice bílá, k zalévání byla použita deionizovaná voda. V průběhu vegetace (9 týdnů) byla sledována koncentrace živin (N, P, K, Ca, Mg) v půdním roztoku (odsávací zařízení Rhizon SMS) a jejich příjem rostlinami.

Různé formy minerálního dusíku byly stanoveny na průtokovém kolorimetrickém analyzátoru FIA Star 5020, koncentrace ostatních prvků s využitím přístroje ICP-OES Trace Scan.

Výsledky a diskuse

Adsorpce amoniaku

Testováním byly proměřovány průnikové křivky amoniaku v adsorbérech s jednotlivými sorbenty. Z průnikových křivek[10] byla následně bilančně vypočtena adsorbovaná množství amoniaku do okamžiku úplného nasycení adsorbentu, tj. do rovnovážného stavu odpovídajícího příslušné koncentraci amoniaku v plynu (vyrovnání koncentrací amoniaku ve vzduchu vstupujícím a vystupujícím z adsorbéru).

Ze souboru testovaných adsorbentů (tabulka III) vykazoval za podmínek testování nejvyšší adsorpční kapacitu pro amoniak (cca 36 mg $NH_3.g^{-1}$ adsorbentu) adsorbent na bázi aktivního uhlí impregnovaného kyselinou sírovou. Z důvodu vysoké ceny tohoto adsorpčního materiálu pohybující se ve stovkách Kč.kg^{-1} je jeho použití k čištění odpadního vzduchu z chovů hospodářských zvířat nereálné. Z ostatních testovaných adsorbentů vykazoval dobrou adsorpční kapacitu pro amoniak ještě adsorbent na bázi silikagelu KS Trockenperlen. V tomto případě je však patrná silná závislost adsorpční kapacity na koncentraci amoniaku v plynné směsi. Adsorbenty na bázi zeolitů vykazují ve srovnání s ostatními testovanými adsorbenty nižší adsorpční kapacity pro amoniak. Přírodní zeolit klinoptilolit má z důvodu snadné dostupnosti a řádově nižší ceny (pohybuje se v jednotkách Kč.kg^{-1}) v porovnání s ostatními adsorbenty ze všech testovaných adsorbentů nejpříznivější poměr ceny a výkonu (náklady na adsorbent vztažené na jednotku odstraněného NH_3). Další výzkumné práce byly proto zaměřeny na možné zvýšení adsorpční kapacity klinoptilolitu pro amoniak jeho chemickou úpravou (impregnací) minerálními kyselinami (tabulka IV), kdy se nejlépe osvědči-

Tabulka III
Adsorpční kapacity různých adsorbentů při rovnovážném nasycení (mg $NH_3.g^{-1}$ adsorbentu) pro různé koncentrace amoniaku v modelové směsi plynů při teplotě 20 °C, relativní vlhkosti modelové směsi plynů 40–45 % a při postupné rychlosti proudění plynu adsorbérem 0,15 $m.s^{-1}$

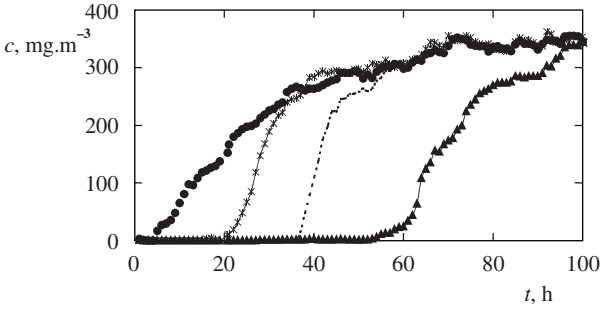
Adsorbent	Adsorpční kapacita při koncentraci NH_3 [$mg.m^{-3}$]		
	166	350	666
Aktivní uhlí SS4-P	34,8	36,2	35,8
Přírodní zeolit klinoptilolit	5,2	10,8	9,9
Klinoptilolit upravený 30% HNO_3	22,4	23,6	23,9
KS Trockenperlen	14,9	20,3	23,1
KC Envisorb B	8,8	13,6	16,0
Molekulové síto 5A	5,7	7,7	8,5
X13	7,2	11,3	13,2

Tabulka IV
Adsorpční kapacity (mg $NH_3.g^{-1}$ adsorbentu) upravovaných vzorků klinoptilolitu pro NH_3 o koncentraci 350 $mg.m^{-3}$ při rovnovážném nasycení, při průtoku plynu 200 $l.h^{-1}$, relativní vlhkosti modelové směsi plynů 40–45 % a teplotě 20 a 50 °C

Klinoptilolit	Adsorpční kapacita při teplotě	
	20 °C	50 °C
Přírodní neupravovaný	10,8	11,9
Aktivovaný při 250 °C	11,6	10,3
Impregnovaný 30% H_2SO_4	22,5	29,7
40% HNO_3	26,3	23,7
40% H_3PO_4	28,4	26,0
30% H_2SO_4 a 40% H_3PO_4	34,9	29,7

Tabulka V
Vliv relativní vlhkosti modelové směsi plynu na adsorpční kapacity vzorků klinoptilolitu pro NH_3 při úplném nasycení, teplotě adsorpce 20 a 50 °C a koncentraci NH_3 v modelové směsi plynů 360 $mg.m^{-3}$

Klinoptilolit	Adsorpční kapacita [mg $NH_3.g^{-1}$ adsorbentu] při relat. vlhkosti			
	<0,1% relat.		95% relat.	
	20 °C	50 °C	20 °C	50 °C
Neupravovaný	34,3	31,4	9,4	9,6
Aktivovaný	32,3	31,6	8,9	8,0
Impregnovaný 30% H_2SO_4	24,3	24,7	46,6	25,6



Obr. 2. **Ukázka měření průnikových křivek vzorků klinoptilolitu impregnovaného 20% kyselinami** (průtok plynu 200 $l.h^{-1}$, koncentrace NH_3 ve vzduchu 350 $mg.m^{-3}$); — vstup, ● přírodní klinoptilolit, ▲ klinoptilolit s 20% H_2SO_4, - - - klinoptilolit s 20% HNO_3, ∗ klinoptilolit s 20% H_3PO_4

la dvojnásobná impregnace kyselinou sírovou a následně kyselinou fosforečnou.

Průběh měření adsorpce NH_3 na přírodním klinoptilolitu i klinoptilolitu upraveném 20% kyselinami (H_2SO_4, HNO_3 a H_3PO_4) znázorňuje obr. 2, kde je mezi průnikovými křivkami vzorků upravených jednotlivými kyselinami dobře patrný posun, způsobený sytností kyseliny (a tím i různou schopností chemisorpce NH_3). Porovnáváním adsorpčních kapacit se zjistilo, že se k úpravě zeolitu nejlépe osvědčily 40% kyseliny (HNO_3 a H_3PO_4). Kyselina sírová směla být používána maximálně 30%, neboť při vyšší koncentraci adsorpční kapacita značně poklesla (patrně v důsledku narušení struktury klinoptilolitu).

Adsorpční kapacita klinoptilolitu pro amoniak je ovlivněna vlhkostí čištěného plynu (tabulka V). Při čištění suchého vzduchu neobsahujícího vodní páru je adsorpční kapacita neupravovaného klinoptilolitu pro amoniak asi trojnásobná ve srovnání s vlhkým vzduchem. Předchozí termická aktivace klinoptilolitu nemá prakticky na tyto výsledky vliv. Naproti tomu klinoptilolit impregnovaný kyselinou sírovou vykazuje podobné adsorpční kapacity pro amoniak při velmi nízké i velmi vysoké vlhkosti vzduchu. Výjimku (viz tabulka V) tvoří výsledek pokusu prováděného za teploty 20 °C s vlhkým vzduchem (95% relat.). Při tomto pokusu byl v adsorbéru pozorován vznik kapalné fáze pohybující se ve směru proudění plynu adsorbérem. Reakce probíhající v této tzv. vlhké zóně vedly k takovým produktům, které způsobily spojení jednotlivých zrn adsorbentu a adsorbent bylo možné po ukončení pokusu z adsorbéru jen obtížně odstranit.

Pro posouzení možnosti využití klinoptilolitu nasyceného amoniakem jako hnojiva byly provedeny testy vodných výluhů klinoptilolitu před i po sorpci amoniaku. Tyto hodnoty shrnuje tabulka VI. Měřením byla ověřena změna pH z kyselé či neutrální hodnoty před adsorpcí amoniakem na zásaditou hodnotu pH po adsorpci při použití přírodního, aktivovaného či impregnovaného klinoptilolitu HNO_3. Při impregnaci klinoptilolitu kyselinou sírovou zůstávalo pH i po adsorpci kyselé. U impregnace klinoptilolitu H_3PO_4 je pravděpodobně pH ovlivněno stupněm disociace kyseliny.

Na základě RTG difrakce bylo prokázáno, že i v materiálu, který podstoupil impregnaci 40% H_3PO_4, po níž hodnota pH příslušného vodního výluhu činila pouze 1,11, byl dominantní fází klinoptilolit (cca 60 %) doprovázený zejména křemenem

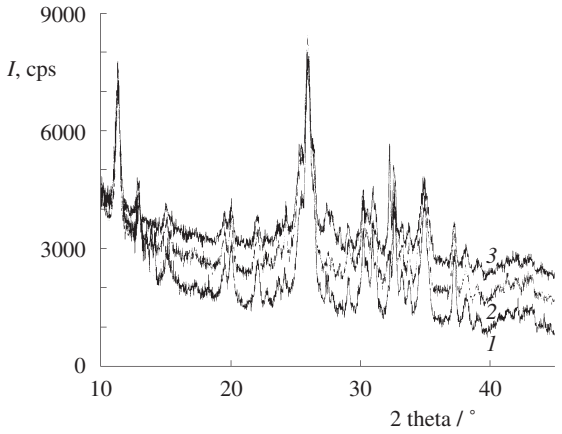
Tabulka VI
Změna pH vodných výluhů sorbentů před a po adsorpci amoniakem

Klinoptilolit	pH		ΔpH
	před sorpcí	po sorpci	
Přírodní	7,43	11,39	3,96
Aktivovaný při 250 °C	6,53	11,40	4,87
Impregnovaný 20% H_2SO_4	2,94	4,42	1,48
30% H_2SO_4	1,51	4,48	2,97
30% HNO_3	4,02	8,65	4,63
40% HNO_3	4,07	8,51	4,44
30% H_3PO_4	2,53	4,76	2,23
40% H_3PO_4	1,11	6,00	4,89

Tabulka VII
Koncentrace sledovaných živin a minerálních forem dusíku ($mg.l^{-1}$) v půdním roztoku v průběhu vegetace po 1, 3 a 9 týdnech kontaktu půdy se zeolity

Parametr	Kontrola	Klinoptilolit		
		přírodní	+ NH_3	+ NH_3 + P
		Po prvním týdnu		
NH_4-N	n.d.[a]	n.d.[a]	14,55±0,96	96,31±3,17
NO_2-N	0,072±0,011	0,078±0,013	1,054±0,039	0,518±0,037
NO_3-N	241,3±13,9	240,0±25,6	748,2±13,7	310,3±33,6
P	0,29±0,07	0,32±0,11	0,36±0,10	22,43±0,89
K	10,78±0,96	16,14±0,37	28,17±1,04	34,02±1,27
Ca	347,6±12,8	375,8±31,3	477,1±38,5	381,4±26,9
Mg	63,98±2,35	66,52±3,15	82,79±3,64	78,07±4,19
pH	*8,40*	*8,40*	*8,25*	*6,90*
		Po třech týdnech		
NH_4-N	n.d.[a]	n.d.[a]	0,015±0,008	10,83±0,95
NO_2-N	0,019±0,009	0,031±0,008	0,341±0,027	4,908±0,241
NO_3-N	14,08±3,06	4,93±1,49	474,0±26,3	463,1±45,5
P	0,43±0,09	0,34±0,08	0,33±0,10	31,51±1,21
K	3,62±0,87	5,63±0,63	13,9±1,12	17,98±1,56
Ca	153,1±12,4	118,1±11,6	617,2±26,9	587,8±22,4
Mg	32,75±1,18	24,69±1,26	109,2±4,62	126,2±3,98
pH	*8,35*	*8,30*	*7,90*	*6,65*
		Po devíti týdnech		
NH_4-N	n.d.[a]	n.d.[a]	n.d.[a]	0,030±0,003
NO_2-N	n.d.[a]	n.d.[a]	0,013±0,003	0,014±0,002
NO_3-N	1,56±0,57	3,54±1,27	5,36±1,79	39,66±2,88
P	0,24±0,05	0,25±0,11	0,35±0,07	19,28±1,17
K	0,79±0,12	2,67±0,34	1,19±0,27	1,26±0,15
Ca	34,22±2,08	37,41±2,75	29,02±2,26	65,88±7,01
Mg	6,89±0,25	7,33±0,39	6,42±0,81	17,43±0,79
pH	*7,70*	*7,60*	*7,65*	*6,45*

[a] n.d. – nebylo detegováno



Obr. 3. **Difraktogramy přírodního klinoptilolitu (*1*), klinoptilolitu impregnovaného 40% H_3PO_4 po promytí H_2O (*2*) a impregnovaného klinoptilolitu bez promývání H_2O (*3*)**

(10 %) a živci (20 %). Obsah jednotlivých fází byl stanoven metodou vnějšího standardu srovnáním intenzit fází ve vzorku s intenzitami standardů. Na obr. 3 jsou pro porovnání znázorněny difraktogramy přírodního klinoptilolitu (*1*), klinoptilolitu impregnovaného 40% H_3PO_4 po promytí H_2O (*2*) a impregnovaného klinoptilolitu bez promývání vodou (*3*), které jsou z pohledu této metody takřka totožné, což dokazuje, že vlivem impregnace klinoptilolitu touto kyselinou nebyla narušena struktura původního vzorku.

Využití zeolitu nasyceného amoniakem

Největší rozdíly mezi jednotlivými variantami pokusu v rostlinné produkci byly zjištěny v dynamice uvolňování dusíku a fosforu do půdního roztoku (tabulka VII) a jejich následného příjmu rostlinami (tabulka VIII). U kontrolní varianty a půdy s přídavkem přírodního klinoptilolitu byl téměř veškerý minerální dusík v půdním roztoku představován jeho nitrátovou formou přístupnou rostlinám. Během prvních tří týdnů byl tento dusík rostlinami spotřebován a v dalších fázích růstu se u těchto variant projevil jeho deficit. U variant, kde byl použit zeolit s adsorbovaným amoniakem, byl majoritní podíl minerálního dusíku rovněž ve formě nitrátů, ale zároveň zde byl v počátečních fázích experimentu nalezen i amoniakální a nitritový dusík, jejichž množství v průběhu vegetace klesalo v důsledku jeho postupné nitrifikace. Uvolnění amoniaku i následná oxidace dusíku probíhaly pomaleji při použití klinoptilolitu impregnovaného H_3PO_4, kde k fixaci amoniaku přispěla i kyselá reakce adsorbentu. V důsledku výše uvedených jevů byla nejvyšší koncentrace nitrátového dusíku v půdním roztoku za celou dobu vegetace u této varianty zjištěna tři týdny po založení experimentu, zatímco u ostatních variant to bylo v prvním týdnu pokusu. Vyšší koncentrace nitrátového dusíku v půdním roztoku ve srovnání s ostatními variantami byla u této varianty zjištěna ještě po skončení pokusu (tabulka VII). Zeolity obecně bývají označovány jako hnojiva pomalu uvolňující živiny[11], ale řada prací[12] s přírodními i syntetickými materiály tento jev nepotvrdila. Rovněž z prezentovaných výsledků vyplývá, že dusík adsorbovaný na zeolitu ve formě amoniaku byl z jeho struktury rychle uvolněn a v průběhu

jednoho až tří týdnů převeden na rostlinám přístupné formy. Impregnace zeolitu kyselinou zvýšila nejen jeho sorpční kapacitu, ale i zpomalila zmiňované děje, a tento materiál ve srovnání s jinými skutečně působil jako zdroj postupně uvolňovaných živin. Toto je pozitivní efekt z praktického hlediska, který může vést k omezení ztrát živin a jejich efektivnějšímu využití rostlinami.

Mineralizace vzorků rostlin (tabulka VIII) odebraných ve dvou růstových fázích potvrdila tendence pozorované v půdním roztoku. Zapravení různých vzorků klinoptilolitu do půdy neovlivnilo proces klíčení semen ani vzcházení rostlin a v průběhu prvních tří týdnů nebyly mezi jednotlivými variantami zjištěny rozdíly z hlediska nárůstu biomasy rostlin, ale jen malé, většinou statisticky průkazné rozdíly v obsahu živin v rostlinách. Významné rozdíly, např. výnosové, byly zjištěny až v dalších vývojových fázích, kdy se projevilo odčerpání živin z půdní zásoby. Výnos nadzemní části rostlin sklizených ve fázi kvetení byl 3–3,5× vyšší u variant s klinoptilolitem nasyceným amoniakem ve srovnání s kontrolními variantami bez aplikace zdroje dusíku. Množství dusíku stanovené v rostlinách dobře ilustruje výše zmíněnou odlišnou dynamiku uvolňování amoniaku z různě upravených adsorbentů. V rané fázi vegetace přijaly více dusíku rostliny pěstované na půdě obohacené přírodním klinoptilolitem nasyceným amoniakem než zeolitem impregnovaným kyselinou, kde bylo v tomto období nižší množství rostlinám přístupného dusíku v půdním roztoku, ale o čtyři týdny později již byl poměr mezi oběma variantami opačný.

Jak je patrné z tabulky I, po impregnaci klinoptilolitu H_3PO_4 zůstalo v jeho pórech značné množství fosforu, který byl po zapravení zeolitu do půdy uvolňován, a koncentrace fosforu v půdním roztoku pak u této varianty dosáhla řádově vyšších hodnot než v ostatních případech (tabulka VII). Vzhledem k vysoké koncentraci přístupného fosforu v půdním roztoku byl vyšší i jeho příjem rostlinami (tabulka VIII). Tento rozdíl byl statisticky průkazný ($P > 0,95$) ve srovnání se všemi ostatními variantami.

Tabulka VIII
Výnos (g na nádobu) a složení suché hmoty (mg.g^{-1}) nadzemní části rostlin v různých fázích vegetace

Parametr	Kontrola	Klinoptilolit		
		přírodní	+ NH_3	+ NH_3 + P
		Po třech týdnech		
Výnos	*0,97 ± 0,09*	*1,00±0,07*	*1,24±0,11*	*1,25±0,17*
N	9,69 ± 0,04	9,69±0,06	13,35±0,01	12,64±0,14
P	1,07±0,01	1,07±0,01	0,92±0,03	1,16±0,01
K	30,57±0,09	42,26±2,04	46,92±0,59	30,76±0,28
Ca	32,63±0,33	33,56±1,18	47,17±1,19	44,71±1,08
Mg	3,52±0,03	3,38±0,11	4,50±0,17	5,05±0,15
		Sklizeň po sedmi týdnech ve fázi kvetení		
Výnos	*2,72±0,04*	*2,49±0,10*	*8,56±0,22*	*8,11±0,04*
N	3,16±0,06	3,08±0,02	8,25±0,07	9,85±0,01
P	0,66±0,02	0,42±0,01	0,52±0,01	0,89±0,01
K	15,26±0,42	14,60±0,58	28,34±0,70	15,82±0,50
Ca	35,42±0,78	29,99±0,77	37,46±0,45	47,80±0,30
Mg	2,84±0,14	2,27±0,04	4,63±0,8	6,28±0,07

Všechny typy použitého klinoptilolitu obsahovaly ve svých kationtově-výměnných pozicích převážně ionty K^+, Ca^{2+}, méně pak Mg^{2+} či Na^+. V kontaktu s půdním roztokem došlo k částečné výměně těchto kationtů a nárůstu koncentrace přístupných živin v půdním roztoku (tabulka VII). Jejich příjem rostlinami však nebyl jednoznačně zvýšen v důsledku synergického a antagonistického působení jednotlivých živin a odlišných fyzikálně-chemických podmínek, z nichž nejmarkantnější je rozdílné pH půdního roztoku (tabulka VII) i půdní reakce. Zvolená dávka upraveného zeolitu odpovídající 300 mg aplikovaného dusíku na 1 kg půdy vyvolala pokles hodnoty pH o jednotku. Na použité neutrální půdě tento fakt neovlivnil negativně pěstované rostliny, ale při aplikaci tohoto materiálu na půdách s nízkou pufrační schopností by mohla mít uvedená změna pH negativní důsledky na kvalitu. V přirozených polních podmínkách, kde dochází v důsledku srážek k proplavení rozpustných látek do nižších vrstev půdy se však tento efekt projeví v menší míře.

Závěr

Výsledky laboratorních testů odstraňování amoniaku ze vzduchu prokázaly, že přírodní zeolit klinoptilolit je vhodným adsorbentem pro záchyt amoniaku.

Adsorpční kapacitu klinoptilolitu pro amoniak je možné zvýšit úpravami minerálními kyselinami až na zhruba trojnásobek.

Jako nejvhodnější úprava se osvědčila dvoustupňová úprava kyselinou sírovou a následně kyselinou fosforečnou.

Klinoptilolit upravený minerálními kyselinami vykazuje adsorpční kapacitu pro amoniak srovnatelnou s impregnovaným aktivním uhlím vyráběným speciálně pro záchyt amoniaku z plynů.

Vliv teploty na průběh adsorpce se nepodařilo jednoznačně prokázat, z většiny výsledků získaných v rozmezí teplot 20–50 °C je však patrný minimální vliv teploty na adsorpční schopnost zeolitu pro NH_3.

Nádobové vegetační pokusy prokázaly, že amoniak adsorbovaný na zeolitu je možno efektivně využít jako zdroj dusíku při pěstování rostlin.

Z hlediska dynamiky uvolňování živin se jako vhodnější ukázal materiál impregnovaný před adsorpcí kyselinou, z něhož byly živiny uvolňovány pomaleji a dodávány rostlinám postupně po delší úsek vegetačního období.

Klinoptilolit impregnovaný kyselinou vykazoval kyselou reakci i po adsorpci amoniaku. Jeho reálně aplikovatelné dávky snižují pH půdy.

Autoři děkují GA ČR, která poskytla finanční prostředky na řešení dané problematiky (grant GA ČR č. 104/00/1007). K řešení projektu přispělo i MZe ČR, které poskytlo finanční prostředky v rámci Výzkumného záměru 01-01-01.

LITERATURA

1. Bottger A., Ehalt D. H., Gravenhorst G.: *Atmosphärische Kreisläufe von Stickoxyden und Ammoniak*. Bericht der Kernforschungsanlage Jülich, Nr. 158.
2. Šimánek J.: *Čištění plynu II*. Skriptum VŠCHT, Praha 1989.

3. Ciahotný K., Steiner R.: *9. Deutsche Zeolith – Tagung, Halle-Wittenberg, 3.–5. März 1997*, Book of Abstracts, Po 09.
4. Townsed R. P., Loizidou M.: Zeolites *1984* (4), 191.
5. Hlavay J., Vigh G., Olaszi V., Inczédy J.: Zeolites *1983* (7), 188.
6. Meier W.: *Atlas of Zeolites Structure Types*, 4. vyd. Elsevier, London 1996.
7. Kubínyiová E.: *Zeolity z lokality Nižný Hrabovec – ekologická surovina*, Sborník přednášek Zeolity – ekologická surovina. MŽP ČR, Praha 1992.
8. Wecker K.: *Diplomová práce*. Univerzita Erlangen, Norimberk 1994.
9. Králová M., Hrozinková A., Růžek P., Kovanda F., Koloušek D.: Rostl. Vyroba *2*, 131 (1994).
10. Jirglová H.: *Diplomová práce*. VŠCHT, Praha 2001.
11. Vitkalenko L. P., Gudkov I. N., Ilin V. G., Turutina N. V., Bobonič F. M.: *Trudy konferencii i simpoziuma po primeneniju prirodnych ceolitov v životnovodstve i rastenievodstve*. Tbilisi 1981 a 1982, str. 215, Tbilisi 1984.
12. Kovanda F., Růžek P.: Rostl. Vyroba *4*, 149 (1996).

L. Melenová[a], K. Ciahotný[a], H. Jirglová[a], H. Kusá[b], and Pavel Růžek[b] *([a]Institute of Gas Manufacture, Coke Chemistry and Atmosphere Protection, Institute of Chemical Technology, Prague, [b]Research Institute of Plant Production, Prague):* **Removal of Ammonia from Waste Gases by Adsorption on Zeolites and Their Utilization in Agriculture**

In the framework of the project of ammonia removal from waste gases, its adsorption on a natural zeolite, clinoptilolite, was investigated. The material can be simply modified to reach an adsorption capacity comparable with commercial adsorbents for removal of ammonia from the gas phase. The adsorbed ammonia can be utilized as a nitrogen source in plant cultivation. On admixing the ammonia-saturated adsorbent with soil, the yields and quality of plant production were favourably influenced, also by the presence of other nutrients in the adsorbent (K, Ca). The modification of clinoptilolite before ammonia adsorption influences the bonding of ammonia to the adsorbent and, consequently, also the dynamics of its release into soil (soil solutions).

SPECIFIKA LIKVIDACE PLEVELŮ PŘED SETÍM PLODIN PŘÍPRAVKEM ROUNDUP FORTE

JIŘÍ MATUŠ

Monsanto ČR s.r.o., Rybkova 1, 602 00 Brno

Došlo 8.4.03, přepracováno 6.5.03, přijato 8.5.03.

Klíčová slova: likvidace plevelů, Roundup Forte

Na jaře roste aktuálnost tématiky likvidace vytrvalých i jednoletých plevelů na orné půdě před setím jarních plodin. Poměrně dlouhé období mezi začátkem vegetace a termínem setí kukuřice a slunečnice otevírá prostor pro poslední efektivní zásah. Pod slovem efektivní je zde zapotřebí rozumět nejen účinný, ale i přinášející efekt v podobě odstranění konkurenčního působení plevelů ještě před vzejitím plodiny a tím i zabezpečení podmínek pro maximální využití výnosového potenciálu plodiny. Nikdo z nás přece nechce investovat peníze na likvidaci plevelů až v době, kdy už byla škoda napáchána a výnos ovlivněn nežádoucím směrem.

Jarní aplikace systemických neselektivních herbicidů, ke kterým řadíme i Roundup Forte však podléhá některým omezením, se kterými je třeba počítat a v návaznosti na ně učinit i konkrétní opatření. Systemické neselektivní herbicidy vyžadují pro dosažení účinnosti dostatečný podíl nadzemní hmoty plevelů vůči podzemním orgánům. Plevele je zapotřebí ponechat obrůstat co nejdéle, aby byl podíl nadzemní hmoty co nejvyšší, aby co nejvíce oddenků pýru nebo pcháče vyrašilo ještě před aplikací. Tyto herbicidy také potřebují dostatek času na proniknutí do kořenů a podzemních orgánů a po tuto dobu je nutno ponechat pozemek v klidu. Proti tomu však stojí požadavek agronoma zaset slunečnici a kukuřici co nejdříve.

Roundup Forte je výjimka

Již po dvě sezóny si agronomové v praxi s úspěchem ověřují výjimečnou kvalitu přípravku Roundup Forte. Přípravek je vyráběn zcela novým způsobem.

Jednou z jeho předností je razantní pronikání do kořenového systému plevelů. Doba, po kterou je zapotřebí ponechat plevele v klidu, se u tohoto přípravku zkracuje ze 7 až 10 na 3 až 4 dny (4 dny v případě pcháče nebo velmi nízkých teplot po aplikaci přípravku). V praxi to znamená, že agronom nemusí čekat s termínem setí, než plevele přípravek přijmou. Naopak může ponechat plevele obrůstat až o týden déle a aplikovat ještě 3 dny před předseťovou kultivací nebo před setím plodiny. Díky pozdějšímu termínu aplikace vyraší více oddenků a semen plevelů. Přípravek tak pomůže pozemek odplevelit dokonaleji.

Další vítanou vlastností je nezávislost přípravku na koncentraci v aplikační kapalině. Není zde zapotřebí dodržovat pravidlo alespoň 2% roztoku jako u ostatních přípravků. Jinými slovy, je naprosto jedno, zda je přípravek aplikován ve 100 nebo 400 l aplikační kapaliny na hektar. Účinnost zůstává v tomto rozmezí dávky vody na hektar vynikající. Vyšší dávka vody je zapotřebí při aplikaci preemergentních herbicidů, například Guardian EC, Guardian Safe Max a nebo přípravků na bázi atrazinu. Roundup Forte lze aplikovat spolu s těmito přípravky ještě před setím kukuřice a ušetřit tak pojezd postřikovače po poli. Jedinou komplikací zůstává nerozpustnost v DAM 390. Přípravek je zapotřebí rozpustit ve vodě a aplikovat v roztoku DAM 390 ředěném vodou 1:1.

Dávkování a aplikace přípravku Roundup Forte

Pro aplikaci platí jednoduchá pravidla. Dávku přípravku je zapotřebí volit podle nejodolnějšího plevele (viz tabulka I). Dávku aplikační kapaliny lze volit s ohledem na to, zda použijeme tank mix s preemergentními herbicidy, které potřebují alespoň 300–400 l vody na hektar. Pokud přípravek aplikujeme samostatně, je s ohledem na výkon postřikovače vhodnější dávka 100 l vody na hektar. Aplikovat bychom měli co nejpozději, nejdéle však 3 dny před plánovaným termínem setí nebo kultivace.

Ještě výhodnější aplikace v půdoochranné technologii EKOTECH®

Pěstování kukuřice a slunečnice půdoochrannou technologií se bez aplikace přípravku Roundup neobejde. Přípravek zde zastupuje funkci pluhu s tím, že jeho účinnost na plevele

Tabulka I
Dávkování přípravku Roundup Forte před setím plodin

Plevel	Dávka [kg]	Objem aplikační kapaliny [l]	Poznámka
Jednoleté jednoděložné plevele, likvidace špatně přezimovaných porostů obilnin	0,75	100–400	
Jednoleté dvouděložné plevele	0,75–1	100–400	u menších plevelů – do 4 párů pravých listů lze použít nižší dávku
Pýr	1–1,25	100–400	
Pcháč	1–1,5	100–400	
Likvidace špatně přezimovaných porostů řepky	1,5	100–400	vhodné aplikovat dříve na jaře, dokud jsou rostliny ve fázi přízemní růžice

je vždy vyšší a zároveň pomáhá šetřit půdní vláhu. Zásady dávkování přípravku Roundup Forte a aplikační kapaliny zůstávají stejné. Termín aplikace zůstává v případě mělké předseťové kultivace stejný jako při klasické orbě – nejpozději 3 dny před kultivací.

U přímého výsevu lze termín aplikace v případě likvidace jednoletých plevelů posunout až do doby těsně před setím. U vytrvalých plevelů lze aplikovat ještě 2 dny před setím.

V případě likvidace mulče nevymrzající plodiny, třeba žita, je vhodné aplikovat dříve, v době mezi tvorbou prvního a druhého kolénka. Touto aplikací zastavíme mulč žita přesně v době, kdy vytvořilo perfektní protierozní bariéru, a zabráníme mu v nadbytečné tvorbě hmoty na úkor půdní vláhy a účinnosti preemergentních herbicidů. Ještě ve stadiu druhého kolénka lze na mulč aplikovat spolu s přípravkem Roundup Forte preemergentní herbicid Guardian Safe Max s partnery bez rizika snížení účinku.

Závěr

Předseťová aplikace přípravku Roundup Forte dává poslední šanci na opravdu efektivní zásah proti vytrvalým plevelům. Vlastnosti přípravku Roundup Forte zároveň nejlépe vyhovují požadavkům jarní aplikace na co nejdelší lhůtu potřebnou pro obrůstání plevelů a na nutnost aplikace preemergentních herbicidů ve velkém objemu vody. Roundup Forte obstál na výbornou v konkurenci mnoha přípravků již druhým rokem.

J. Matuš *(Monsanto ČR s.r.o., Brno):* **Characteristic Attributes of the Weed Control before Crop Seeding by the Roundup Forte Herbicide**

Dosing, schedule and advantages of the overhead application of the Roundup Forte herbicide are described in the article.

UPLATNĚNÍ NIR SPEKTROSKOPIE V ANALÝZE ČOKOLÁDY

JANA ČOPÍKOVÁ, MIROSLAVA NOVOTNÁ, IRENA ŠMÍDOVÁ, ANDRYI SYNYTSYA a MARCELA ČERNÁ

Ústav chemie a technologie sacharidů, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 3/5, 166 28 Praha 6
e-mail: copikovj@vscht.cz

Došlo 26.8.02, přepracováno 20.3.03, přijato 29.5.03.

Klíčová slova: čokoláda, NIR spektroskopie, plynová chromatografie, kapalinová chromatografie, kalibrace, testace

Úvod

Infračervená spektroskopie v blízké infračervené spektrální oblasti (12 000–4 000 cm^{-1}), dále jen NIR spektroskopie, zažívá v současnosti značný rozvoj. K širokému rozšíření blízké infračervené spektroskopie přispěla skutečnost, že je to metoda rychlá, nedestruktivní vůči vzorku a velmi nenáročná na jeho úpravu. Využívá spektrální oblast vyšších harmonických nebo kombinačních absorpčních pásů, ve které je sice přesné přiřazení absorpčního pásu danému typu vibrace v molekule obtížné, avšak jemné rozdíly chemické struktury velmi podobných látek jsou zvýrazněny. Ve spojení s chemometrickými a statistickými metodami vyhodnocení dat se tak dostává uživatelům silný nástroj především pro aplikaci ve vícesložkové analýze kvalitativní i kvantitativní. Nevýhodou NIR spektroskopie je fakt, že to není přímá metoda, ale je nezbytná kalibrace rozsáhlými soubory vzorků, jejichž analytické hodnoty byly stanoveny nezávislými standardními metodami. Pokud jsou tyto běžně využívané analytické postupy pracné a časově náročné, potom využití NIR spektroskopie je značnou časovou i finanční úsporou.

Historický základ NIR spektroskopie byl položen v USA, kde se začalo po 2. světové válce vykupovat obilí podle jeho složení a obsahu vody. Možnost zpracovat velká množství vzorků a téměř okamžité výsledky analýz daly podnět k tomu, že tato instrumentální technika byla intenzivně studována a NIR spektrometry zaváděny do praxe[1].

V 70. letech 20. století se začaly vyrábět jednoduché NIR analyzátory pro stanovení obsahu tuku, vlhkosti a bílkovin v různých potravinářských surovinách. Původně byly uplatňovány při analýze pšenice, mouky, sušeného mléka a kukuřičného škrobu. Postupně se použití NIR spektroskopie rozšiřovalo jak v zemědělství, tak v potravinářském průmyslu a samozřejmě i v ostatních průmyslových odvětvích. Dalším zlomem bylo zavedení infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací, jejíž výhody se uplatňují tam, kde končí možnosti spektroskopie disperzní. Ve spojení se vzorkovacími technikami využívajícími optická vlákna je NIR spektroskopie ideální metodou pro on-line analýzu v průběhu technologických procesů.

Rozšíření NIR spektroskopie by však nebylo možné bez současného rozvoje chemometrických metod a výkonné výpočetní techniky, která umožňuje statisticky vyhodnotit snímaná spektra v korelaci s analyticko-chemickými a fyzikálními vlastnostmi měřených vzorků[1].

Analýza cukrovinek pomocí NIR spektroskopie

NIR spektroskopie je široce používána ke kontrole potravinářských surovin a produktů, avšak prací z oblasti analýzy čokolády a čokoládových cukrovinek je dosud uveřejněno jen velmi málo. Jedni z prvních, kdo se pokusili využít NIR spektroskopii při analýze výrobků z kakaových bobů, byli Permanyer a Perez[2], kteří kontrolovali analytickou kvalitu kakaového prášku.

Možností využití NIR spektroskopie k průběžné technologické kontrole při výrobě cukrovinek se zabývala ve své práci Kradjel[3]. Na základě interpretace NIR spekter navrhla využití této techniky při stanovení obsahu tuku a vlhkosti, příp. cukrů, v kakaových bobech a produktech z nich vyrobených.

Davies a spol.[4] porovnávali sensorické vlastnosti čokoládových výrobků a NIR spektra surových kakaových bobů. Výsledky prokázaly, že náročnou senzorickou analýzu je možné nahradit vhodnou aplikací NIR spektroskopie. Možnostem on-line analýzy za použití NIR spektroskopie se věnoval Benson[5]. Zabýval se vícesložkovou analýzou různých druhů potravin. Například úspěšně stanovil obsah tuku a vlhkosti v čokoládě.

Čopíková a spol.[6] zkoumali možnost využití NIR spektroskopie jako rychlé analytické metody pro měření obsahu tuku a vlhkosti v různých typech čokolády a v tekutých čokoládových hmotách. Vytvořený kalibrační model byl úspěšný, vzhledem k méně rozsáhlému souboru vzorků se však nepodařilo výsledky úspěšně ověřit. Tarkošová a Čopíková[7] se snažily využít NIR spektroskopii ke stanovení sacharosy, laktosy, vlhkosti, tuku, viskozity a hranice toku v čokoládách. Čokolády byly proměřovány při teplotě 40 °C. Validace byla úspěšná v případě stanovení cukrů, vlhkosti a tuku. Skutečnost, že NIR analýza neprobíhala současně s reologickým měřením, zřejmě způsobila, že validace pro fyzikální parametry „viskozita“ a „hranice toku“ nebyla úspěšná.

Bolliger, Windhab a Zeng[8] sledovali krystalizaci kakaového másla v čokoládové hmotě probíhající v temperačním stroji s řízenou rychlostí míchání. Průběh krystalizace kakaového másla sledovali diferenciální skenovací kalorimetrií, reometricky a on-line NIR spektroskopií. Rychlost otáček míchadla v temperovacím stroji odpovídala průběhu krystalizace a tato změna, tj. změna viskozity a tudíž počtu krystalů, se projevila v NIR spektrech snímaných přímo v zařízení. Stupeň temperace čokoládových hmot měřili Shibata, Ono a Hirano[9] rovněž NIR spektroskopií. Uspokojivých výsledků dosáhli při analýze pevných čokolád.

Předmětem tohoto článku je ověření možnosti stanovení obsahu tuku, sušiny a jednotlivých cukrů, tj. sacharosy a laktosy, v hořkých a mléčných čokoládách NIR spektroskopií. V rozmezí let 1995 až 1998 byly analyzovány na FTIR spektrometru Nicolet 740 (cit.[10]) dva soubory vzorků mléčných čokolád. Byla měřena spektra tabulkových čokolád. Přístroj byl kalibrován hodnotami obsahu sacharosy, laktosy, tuku a vlhkosti. Obsah cukrů byl stanoven plynovou chromatografií.

Na disperzním přístroji NIR System 6500 (cit.[11,12]) byly

proměřovány tabulkové a roztavené hořké a mléčné čokolády, které byly zahrnuty do jednoho modelu. U těchto vzorků byl stanoven obsah cukrů kapalinovou chromatografií.

Experimentální část

Kalibrace přístroje Nicolet 740

Ke kalibraci přístroje Nicolet 740 (Nicolet Instruments Co., USA) bylo použito 51 vzorků mléčných čokolád, u kterých byla stanovena vlhkost sušením[13], tuk po extrakci petroléterem[14] a sacharosa a laktosa plynovou chromatografií (tabulka I). Měření na přístroji Nicolet 740 bylo uspořádáno tak, že byly proměřovány tabulky temperovaných čokolád.

Spektra v NIR spektrální oblasti v rozsahu vlnočtů 11 500–4 000 cm^{-1} byla získána na FTIR spektrometru Nicolet 740 s detektorem InSb a křemenným děličem paprsku, metodou difúzně reflektanční spektroskopie (DRIFTS) na nástavci fy. SpectraTech s úhlem dopadu na povrch vzorku 45°. Pozadí bylo stanoveno na leštěné ocelové zrcátko. Byly zvoleny tyto parametry měření: rozlišení 8 cm^{-1}, počet akumulovaných spekter 512, apodizace podle Happa a Genzela, vzorek byl proměřen dvakrát a do modelu byla zařazena všechna naměřená spektra. Infračervená spektra byla zpracována pomocí softwaru QuantIR, verze 1.0, (Nicolet Instruments, USA) s využitím kvantitativní chemometrické metody „částečných nejmenších čtverců“ (PLS).

Sacharosa a laktosa byly v kalibračním souboru vzorků stanoveny ve formě trimethylsilyletherů[15] plynovou chromatografií (GLC). Měření probíhalo na plynovém chromatografu Chrom 5 (Labora, Praha) s náplňovou kolonou z nerezavějící oceli o rozměrech 1200×4 mm s nosičem Chromaton N/Super s 3 % fáze OV-17. Teplota byla zvyšována od 150 do 250 °C, s prodlevou 2 min při 150 a 250 °C a rychlostí ohřevu 10 °C.min^{-1}. Teplota nástřiku o objemu 1 μl byla 220 °C a teplota detektoru 200 °C. Průtok nosného plynu, dusíku, byl 30 ml.min^{-1}. Nejprve byly připraveny oximy cukrů, aby nevznikaly silylethery α- a β-anomerů. Oximy byly následně derivatizovány hexamethyldisilazanem za katalýzy kyselinou trifluoroctovou. Jako vnitřní standard byl použit fenyl β-D-glukopyranosid, který byl obsažen v oximačním činidle. Chromatografický záznam byl vyhodnocen integrátorem SP 440 (Spectra Physics, USA).

Kalibrace přístroje NIR System 6500

Ke kalibraci přístroje NIR System 6500 (Perstop Analytical Comp., USA) bylo použito 55 vzorků hořkých a mléčných čokolád, u kterých byl stanoven obsah sacharosy a laktosy kapalinovou chromatografií.

Přístroj NIR System 6500 je disperzní spektrometr vybavený mřížkovým monochromátorem, který měřil difúzně-reflektanční spektra čokolád v rozsahu vlnových délek 1100 až 2500 nm s rozlišením 2 nm. Jako zdroj záření slouží žárovka s wolframovým vláknem. Z měřících cel, kterými je přístroj vybaven, byla zvolena jako nejvhodnější cela na měření vzorků s vysokým obsahem tuku nebo vlhkosti (high fat/moisture cup). Přístroj je jednopaprskový (systém scan standard/scan sample), pozadí bylo vztaženo k refleksanci keramického standardu. Počet akumulací spektra byl 16 a každý vzorek byl proměřován celkem třikrát, přičemž všechna naměřená spektra byla zahrnuta do modelu.

Tabulka I
Obsah (%) vlhkosti, tuku, sacharosy a laktosy ve vzorcích čokolád v kalibračním a validačních souborech přístroje Nicolet 740

Parametr	Vlhkost	Tuk	Sacharosa	Laktosa
		Kalibrační soubor		
Počet vzorků	51	51	51	51
Maximální, %	2,60	34,52	53,52	14,24
Minimální, %	0,44	29,96	36,00	6,90
Průměr, %	1,15	31,31	47,95	9,03
s^a	0,55	0,93	4,73	1,97
s_r^b, %	48,28	2,96	9,86	21,77
		1. Validační soubor		
Počet vzorků	6	6	6	6
Maximální, %	1,5	34,33	50,3	14,3
Minimální, %	0,98	30,52	37,85	7,3
Průměr, %	1,28	31,75	44,46	10,47
s^a	0,16	1,35	5,17	2,48
s_r^b, %	12,29	4,26	11,63	23,70
		2. Validační soubor		
Počet vzorků	–	–	10	10
Maximální, %	–	–	51,85	9,92
Minimální, %	–	–	46,99	8,13
Průměr, %	–	–	48,73	9,31
s^a	–	–	1,77	0,65
s_r^b, %	–	–	3,62	7,02

[a] s – směrodatná odchylka souboru, [b] s_r – relativní směrodatná odchylka

Tabulky temperované čokolády (po krystalizaci kakaového másla ve stabilní formě) byly upraveny tak, aby mohly být vloženy do polyethylenových kyvet (sáčků), které jsou v příslušenství přístroje. Vzorky v kyvetách byly postupně proměřovány v měřící cele přístroje. Tímto způsobem bylo proměřeno 50 vzorků. Vzorky v sáčcích pak byly roztaveny při teplotě 50 °C po dobu 12 h. Po vytemperování na 30 °C byla ihned proměřena jejich spektra v roztaveném stavu. Tímto způsobem bylo proměřeno 44 roztavených vzorků z původních 50. Všechna spektra tabulkových čokolád a jejich tavenin byla zahrnuta do jednoho kalibračního souboru.

Spektra byla vyhodnocena softwarem NIRS3 (Infrasoft International, USA). Při kalibraci byly ověřeny metody MPLS (modifikovaná metoda nejmenších čtverců) a ANN (metoda umělých neuronových sítí).

Sacharosa a laktosa byly stanoveny vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) na kapalinovém chromatografu sestaveném z čerpadla mobilní fáze Constametric 3200 (Thermo Separation Products, USA), předkolony 3×30 mm (SGX NH_2 5 μm, Tessek, ČR), analytické kolony 4×250 mm (Separon SGX NH_2 5 μm, Tessek, ČR), diferenciálního refraktometru RefractoMonitor IV (Thermo Separation Products,

USA). Jako mobilní fáze byla použita směs acetonitrilu a vody (75:25 obj.%). Vzorek rozstrouhané čokolády o hmotnosti 2 g byl suspendován za stálého míchání po dobu 15 minut při teplotě 30 °C ve 20 ml dimethylsulfoxidu. Potom byl objem suspenze upraven na objem 100 ml 80% ethanolem. Vzniklá suspenze byla přefiltrována přes papírový filtr a přes membránový filtr s velikostí pórů 0,45 μm. Na kolonu bylo dávkováno 20 μl přefiltrovaného extraktu vzorku. Chromatogramy byly vyhodnoceny programem CSW 1.6 (Data Apex, ČR).

Diskuse

I když se jednotlivé pásy v NIR spektroskopii běžně neinterpretují, je zajímavé porovnat spektra hořké a mléčné čokolády a jejich surovin, která byla naměřena na spektrometru Nicolet 740. Na obr. 1 jsou uvedena spektra hořké čokolády a dvou důležitých složek čokolád, sacharosy a kakaového másla. Na obr. 2 jsou uvedena spektra mléčné čokolády, kakaového másla, sacharosy a laktosy. Na všech spektrech čokolád lze pozorovat ostrý vyšší harmonický absorpční pás o vlnočtu 6964 cm^{-1} (vlnová délka 1436 nm)[16] odpovídající sacharose. Ostré pásy při vlnočtu kolem 5790 cm^{-1} (vlnová délka 1727 nm) a 5676 cm^{-1} (vlnová délka 1762 nm) přísluší tuku[16]. V oblasti nad 5000 cm^{-1} (2000 nm) absorbují bílkoviny, tuky a cukry, proto by podrobná interpretace kombinačních a vyšších harmonických absorpčních pásů byla zavádějící. V této oblasti se také nacházejí rozdíly v NIR spektrech tabulkové a roztavené čokolády.

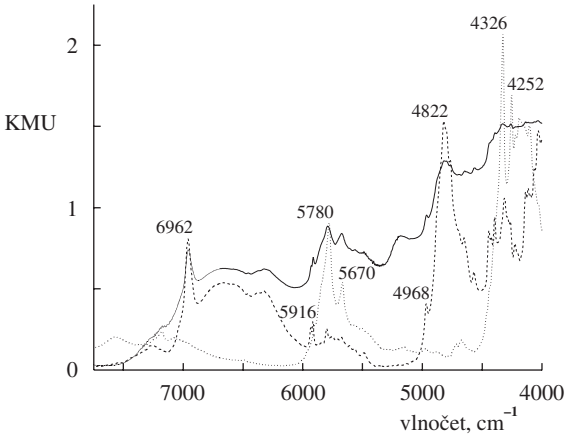
Tabulka I představuje kalibrační a validační soubory pro přístroj Nicolet 740. K hodnocení kalibrace přístroje Nicolet 740 byl použit parametr předpokládaná chyba PEr, což je odchylka mezi analytickou (kalibrační) hodnotou a vypočtenou hodnotou pomocí regresního modelu vyjádřená v procentech (QuantIR, verze 1.0, Nicolet Instruments Co., USA). Absolutní hodnota procentuální odchylky Abs(PEr) by měla být přibližně stejná jako je hodnota relativní směrodatné odchylky s_r analytické metody, která byla použita ke stanovení určité složky (tabulka II).

Kalibrace NIR spektrometru Nicolet 740 byla současně ověřena validačním souborem 6 vzorků (tabulka III). Rozdíl mezi analyticky zjištěnou hodnotou a vypočtenou hodnotou vyjadřuje konkrétní absolutní hodnota procentuální odchylky. Z tabulek II a III vyplývá, že stanovení vlhkosti čokolády NIR spektrometrií nebylo úspěšné. To je celkem v souladu s předpokladem. Obsah vlhkosti v čokoládě je malý (průměrná hodnota 1,15 %) a rozptyl hodnot u validačního souboru byl úzký (0,52 %). Naopak využití NIR spektroskopie pro stanovení obsahu tuku, sacharosy a laktosy se jeví jako reálné. Tyto závěry, s výjimkou stanovení vlhkosti, jsou v souladu s výsledky uveřejněnými v literatuře a získanými měřením na přístroji Nicolet Avatar 360N (cit.[7]).

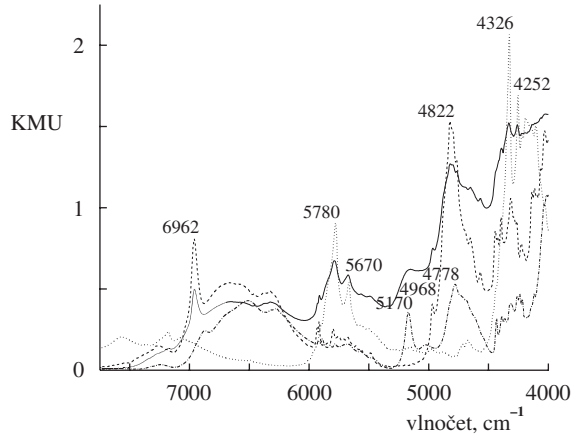
Popsaná kalibrace pro složky sacharosa a laktosa u spektrometru Nicolet 740 byla ověřována na souboru 10 vzorků mléčných čokolád s delším časovým odstupem 7 let. Kalibrační model byl tentokrát hodnocen na základě nejistoty[17], což jsou hranice, v nichž je výsledek považován za správný, tj. přesný a pravdivý (tabulka IV). Z porovnání hodnot nejistot vyplývá, že ověření kalibrace pro parametry „sacharosa“ a „laktosa“ bylo úspěšné. Hodnoty získané plynovou chromatografií a NIR spektroskopií u těchto vzorků byly také porovnány podle směrnic regresních přímek k a korelačních koefi-

Tabulka II
Relativní směrodatné odchylky s_r vybraných analytických metod

Složka	Analytická metoda	s_r metody [%]
Tuk	ČSN 560146, část 4	0,44
Sacharosa v mléčné čokoládě	GLC	2,29
Laktosa v mléčné čokoládě	GLC	2,85
Sacharosa v mléčné čokoládě	HPLC	0,77
Laktosa v mléčné čokoládě	HPLC	1,35
Sacharosa v hořké čokoládě	HPLC	0,15
Vlhkost	ČSN 560146, část 3	3,56



Obr. 1. **NIR spektra sacharosy (- - - -) , kakaového másla (. . . .) a hořké čokolády (——)**; KMU – jednotka Kubelka-Munk



Obr. 2. **NIR spektra sacharosy (- - - -), laktosy (· - - - ·), kakaového másla (. . . .) a mléčné čokolády (——)**; KMU – viz obr. 1

Tabulka III
Ověření kalibrace spektrometru Nicolet 740 pro sacharosu, laktosu, tuk a vlhkost

Vzorek	Sacharosa			Laktosa			Tuk			Vlhkost		
	GLC[a]	NIR[a]	Abs(PEr)[b]	GLC[a]	NIR[a]	Abs(PEr)[b]	NMR[a]	NIR[a]	Abs(PEr)[b]	sušení[a]	NIR[a]	Abs(PEr)[b]
1	50,3	49,81	0,98	8,29	8,43	1,71	30,58	30,37	0,67	0,98	1,09	10,82
2	48,82	49,05	0,48	7,30	7,25	0,67	30,52	30,55	0,10	1,36	1,32	2,89
3	38,06	38,60	1,43	13,08	13,43	2,70	31,79	32,51	2,25	1,28	1,35	5,74
4	37,85	36,97	2,32	14,30	13,62	4,73	32,48	31,00	3,63	1,50	1,39	7,28
5	42,82	42,58	0,57	10,05	9,97	0,83	34,33	34,24	0,25	1,33	1,38	3,44
6	48,93	48,82	0,84	9,79	9,37	4,27	30,80	30,37	1,41	1,24	1,17	5,94

[a] Obsah složek v %, [b] Abs(PEr) absolutní hodnota procentuální odchylky

Tabulka IV
Ověření kalibrace spektrometru Nicolet 740 pro sacharosu a laktosu (v %)

Vzorek	Sacharosa			Laktosa		
	GLC	NIR	nejistota	GLC	NIR	nejistota
1	47,33	47,39	0,38	9,65	9,42	0,18
2	47,23	47,20	0,34	9,60	9,34	0,15
3	46,99	47,14	0,25	8,13	8,42	0,21
4	47,01	46,98	0,39	8,14	8,42	0,20
5	48,74	48,39	0,32	9,10	8,92	0,18
6	47,76	47,00	0,39	9,08	9,41	0,20
7	49,27	48,94	0,36	9,81	9,03	0,17
8	49,25	48,98	0,41	9,79	9,12	0,16
9	51,85	52,05	0,40	9,91	9,15	0,20
10	51,85	51,98	0,39	9,92	9,49	0,19
k[a]		*1,00*			*0,96*	
r[b]		*0,99*			*0,91*	

[a] k směrnice regresní přímky, [b] r korelační koeficient

cientů r (tabulka IV). Oba parametry se pro sacharosu i laktosu blíží hodnotě jedna.

Při kalibraci přístroje NIR System 6500 byly využity první derivace NIR spekter vzorků, jejichž obsah sacharosy a laktosy je shrnut v tabulce V. Pro odstranění vlivu rozptylu záření byl použit postup SNVD (standard normal variate and detrend). Tato úprava omezuje vliv velikosti částic a odstraňuje lineární a kvadratická zakřivení ve spektrech. Protože kalibrační model vytvořený pomocí algoritmu MPLS (modifikovaná metoda nejmenších čtverců) neposkytl uspokojující kalibrační výsledky, byl použit algoritmus ANN (metoda umělých neuronových sítí). Výsledky kalibrace přístroje NIR System 6500 jsou uvedeny v tabulce VI. Korelační koeficienty r u metody ANN mají vyšší hodnotu než u metody MPLS a standardní chyba kalibrace (*SEC*) je u metody ANN nižší. Kalibrační koeficient variace (*CCV*) pro laktosu u metody MPLS je 6,93 %, takže přesahuje hranici (5 %) pro velmi spolehlivou kalibraci. Tentýž koeficient pro sacharosu u metody MPLS je na hranici velmi spolehlivé kalibrace (*CCV* = 5,05 %). Kalibrační model vytvořený algoritmem ANN má

Tabulka V
Obsah cukrů (%) v tabulkových čokoládách stanovený pomocí HPLC

Parametr	Sacharosa	Laktosa
Počet vzorků	50	50
Minimální, %	37,58	4,47
Maximální, %	55,56	9,17
Průměr, %	47,51	6,76
s	3,79	1,29
s_r	7,98	19,08

Tabulka VI
Kalibrační výsledky pro stanovení cukrů v čokoládě získané algoritmy MPLS (modifikovaná metoda nejmenších čtverců) a ANN (metoda umělých neuronových sítí) na přístroji NIR System 6500

Složka	n[a]	Průměr [%]	r	*SEC*[b] [%]	*CCV*[c] [%]
		MPLS			
Sacharosa	94	47,51	0,78	2,40	5,05
Laktosa	67	6,76	0,93	0,47	6,93
		AAN			
Sacharosa	92	47,43	0,95	1,21	2,56
Laktosa	65	6,75	0,97	0,33	4,83

[a] n – počet vzorků, [b] *SEC* – standardní chyba kalibrace, [c] *CCV* – kalibrační koeficient variace

pro obsah sacharosy a laktosy kalibrační koeficient variace pod 5 %, takže jej lze považovat za velmi spolehlivý.

Závěr

Kontrola čokoládových hmot, dodržování složení a stálých fyzikálních vlastností, je důležitý aspekt technologie. V současné době se jednotlivé závody specializují a čokolá-

dová hmota je surovinou pro finální výrobce cukrovinek. Zároveň pokračuje poměrně rychle vývoj disperzních NIR spektrometrů i NIR spektrometrů s Fourierovou transformací včetně vyhodnocovacích chemometrických programů. Tato skutečnost, podle autorů předkládaného sdělení, povede k rozsáhlému využívání těchto přístrojů také v cukrovinkářském průmyslu.

Názor, že stanovení jednotlivých cukrů a tuku v čokoládách NIR spektroskopií je možné, je v souladu s výsledky práce Tarkošové a Čopíkové[7]. Obsah vlhkosti v čokoládách je nízký a navíc s poměrně malým rozptylem, takže u tohoto parametru může být použití spektrometrie v blízké oblasti infračerveného záření problematické a záleží na typu přístroje. Pro úspěšné stanovení vlhkosti bude nutný velmi rozsáhlý kalibrační soubor vzorků.

Při kontrole technologie je však také důležitá hodnota viskozity a hranice toku tekutých čokoládových hmot. Tudíž reologické vlastnosti čokolády jsou oblastí, kterou je třeba se zabývat. U těchto fyzikálních parametrů je však nutné s odběrem vzorků při výrobě zároveň provádět jejich stanovení a kalibraci NIR spektrometru.

Autoři článku děkují za finanční podporu projektu FRVŠ 321 14 3010 a společnosti Ska-Tec s.r.o. (Praha, ČR) za pomoc při vyhodnocování spekter naměřených na přístroji NIR System 6500.

LITERATURA

1. Williams P., Norris K.: *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. American Association of Cereal Chemists, St. Paul 1987.
2. Permanyer J. J., Perez M. L.: J. Food Sci. *54*, 768 (1989).
3. Kradjel C.: Manuf. Conf. *71*, 87 (1991).
4. Davies A. M. C.: Vib. Spectrosc. *2*, 161 (1991).
5. Benson I. B.: Spectrosc. Eur. *7*, 18 (1995).
6. Čopíková J., Štarhová H., Bien R.: Potrav. Vedy *12*, 269 (1994).
7. Tarkošová J., Čopíková J.: J. Near Infrared Spectrosc. *8*, 251 (2000).
8. Bollinger S., Windhab E. J., Zeng Z.: J. Am. Chem. Soc. *76*, 659 (1999).
9. Shibata K., Ono M., Hirano S.: J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol. *47*, 692 (2000).
10. Sejkorová M..: *Diplomová práce*. VŠCHT, Praha 1995.
11. Šmídová I.: *Bakalářská práce*. VŠCHT, Praha 1998.
12. Tarkošová J.: *Doktorská práce*. VŠCHT, Praha 2000.
13. ČSN 560146, část 3: *Stanovení vlhkosti sušením při 105 °C* (1984).
14. ČSN 560146, část 4: *Stanovení obsahu tuku* (1984).
15. Sweely C. C., Bentley R., Makita A., Wels R.: J. Am. Chem. Soc. *85*, 2496 (1963).
16. Wilson R. H.: *Spectroscopic Techniques for Food Analysis*, str. 24. VCH Publishers, New York 1994.
17. Terminologická komise: Chem. Listy *94*, 439 (2000).

J. Čopíková, M. Novotná, I. Šmídová, A. Synytsya, and M. Černá *(Department of Chemistry and Technology of Saccharides, Institute of Chemical Technology, Prague):* **Application of Near Infrared Spectroscopy in Chocolate Analysis**

NIR spectroscopy turned out to be a useful tool in the analysis of chocolate. Analytical data for moisture, fat, saccharose and lactose were used for calibration of the used instruments. The performance of the calibration models in assessment of the component contents based on NIR spectral data is reported.

RECENZE

K. Waisser:
Nové české názvosloví organické chemie
Karolinum, Praha 2002.

Učebnic, cvičebnic a příruček chemického názvosloví, zvláště pak názvosloví organické chemie, není stále dost vzhledem k jeho nepostradatelnosti v chemii a v mnoha jiných oblastech (např. ve farmacii, legislativě a patentech), ale i vzhledem k ne právě nejlepším znalostem těch, kteří jej používají a potřebují. Po malé reformě organického názvosloví podle IUPAC v roce 1993, která k nám dorazila až o sedm let později, se objevilo několik takových knižních publikací s různým zaměřením. Na první místo samozřejmě patří převod příslušných pravidel IUPAC do češtiny (Průvodce názvoslovím organických sloučenin podle IUPAC, Academia, Praha 2000), který je na rozdíl od předchozích pravidel velice přehledný a čtivý. Brzy nato vyšla kniha (Fikr, Kahovec: *Názvosloví organické chemie*. Rubico, Olomouc 2002), která je však spíše cvičebnicí, i když obsahuje přehled základních pravidel, a která je určena především studentům středních a vysokých škol. V závěru minulého roku se pak objevila recenzovaná knížka, která je učebním textem pro farmaceutickou fakultu Univerzity Karlovy v Hradci Králové.

Nebývá zvykem recenzovat vysokoškolská skripta, ale v tomto případě je žádoucí učinit výjimku, a to z pozitivních i negativních důvodů. Mezi ty první důvody patří, že již název a určení knížky slibovaly uchopení tématu v celé šíři a tedy dobrou základní informaci nejen pro studenty farmacie, ale i pro ostatní zájemce, jako jsou studenti nechemických vysokých škol, učitelé chemie ze středních a vysokých škol, případně pro pracovníky z praxe, kteří názvosloví potřebují. Taková knížka by byla velice užitečná, kdyby … A tak se dostávám k těm negativním důvodům, které mne vedly k sepsání této recenze.

Tak tedy, recenzovaná knížka nejen že nesplnila očekávání, ale na mnoha místech přináší zavádějící a mylné informace a navíc je šita značně horkou jehlou. Obsahuje neuvěřitelné množství chyb všeho druhu – tiskových, pravopisných, gramatických, stylistických, formulačních i faktických, nemluvě o odborných, tedy věcných – které bylo možné odstranit, kdyby jí autor a nakladatelství věnovali více péče. Chyby vznikly převážně hrubou nedbalostí, ale i nepochopením nebo špatnou interpretací pravidel. Kdybych zde měl uvést všechny chyby z textu, bylo by to předlouhé, nudné a smutné čtení. Proto se omezím na ty věcné a z nich na ty, jejichž pranýřování může být užitečné pro širší čtenářskou obec.

– Termín radikálově-funkční (radikálové) názvosloví je již opuštěn, stejně i radikál ve smyslu substituentu, a to z prostého důvodu, že název radikál je vyhrazen pro species s nepárovým elektronem.
– Hydroxyl v původním významu též patří minulosti. Dnes je jeho význam radikál $^{\bullet}$OH (s nepárovým elektronem) a v organické chemii se tudíž vyskytují jen hydroxyskupiny.
– Polohy jsou v organické chemii označovány lokanty, většinou číselnými. V běžné mluvě lze říci i čísly, ale rozhodně ne číslovkami, neboť ty patří do gramatiky.
– Naft-2-ol a kyselina nafto-1-ová jsou ovšem kuriozity k pohledání. Správně: 2-naftol, kyselina 1-naftoová.
– Autor často zaměňuje význam slov prefix (předpona), sufix (přípona) a koncovka (např. pádová) a nesprávně je používá.
– Velice užitečná mohla být kapitola o názvech kondenzovaných cyklů (významných právě ve farmaceutické chemii), o kterých v češtině neexistuje zevrubné poučení. Bohužel autor poskytuje neúplný a chybný návod, jak postupovat při tvorbě jejich názvů.
– Pro vodorovnou čárku tak častou v organických názvech používá autor různé názvy, někdy i bizarní (rozdělovník!?). Správně: (krátký) spojovník.
– K základním hydridům patří i heterocykly, např. pyridin, ne však například anilin nebo kyselina octová. To jsou základní sloučeniny, neboť obsahují charakteristické skupiny.
– Lokanty (číselné nebo písmenné) mohou být čárkované, tedy s čárkou, ne však s apostrofem.
– V názvech disubstituovaných benzenů se dnes dává přednost číselným lokantům před *o*, *m* a *p*.
– Neexistují žádné hlavní koncovky, existují však hlavní skupiny, které je třeba v názvech uvádět jako zakončení (přípony).
– Fluoren není 1,2,3-trimethylbenzen!
– Názvy uhlovodíků s trojnou vazbou mají příponu -yn, nikoliv -in.
– Označování geometrických isomerů alkenů stereodeskriptory *cis* a *trans* je prakticky opuštěno a ty jsou nahrazeny (*Z*) a (*E*).
– Neexistuje žádné obecné pravidlo o číslování cyklů ve směru hodinových ručiček, jak tvrdí autor na několika místech.
– Názvy jako oxazolin, pyrrolin, imidazolin jsou opuštěny. Místo toho: 4,5-dihydrooxazol, 4,5-dihydropyrrol, 4,5-dihydroimidazol.
– Názvy jako benzofuran, a benzothiofen jsou nejednoznačné. Je třeba vyznačit místo kondenzace cyklů, např. 1-benzofuran, 2-benzothiofen.
– Názvy, které neuvádějí hlavní skupinu příponou (zakončením), jsou špatné názvy.
– Je zcela nevhodné zavádět názvy typu azan a zvláště pak oxidan a ještě k tomu pro studenty, protože se vůbec nepoužívají. Stále platí dosavadní názvy pro aminy, ethery, alkoholy a (zaplaťbůh) i pro obyčejnou vodu.
– Číselné lokanty v názvech se nikdy nepíší kurzivou.
– Složené substituenty, tedy substituované substituenty se uvádějí v názvech vždy v závorkách, např. 1-(chlormethyl)naftalen.
– Názvy karboxylových kyselin jako propan-1-ová jsou špatné (u zakončení -ová se nikdy neuvádí poloha, protože COOH může být jen na koncích alifatického řetězce).
– Předponový název pro COOH je karboxy-, ne hydroxykarbonyl.
– Předpona per- pro úplně hydrogenované cykly se neužívá. Počet vodíkových atomů je třeba specifikovat. Ne tedy perhydronaftalen, nýbrž dekahydronaftalen.
– Trimethoxyfosfan je vždy trimethyl-fosfit.

– Pro vyznačení směru vazeb pod nákresnu se již nepoužívají čárkované nebo klínové rozšiřující se vazby, nýbrž žebříčkovité vazby.

Četné chyby jsou i v kapitolách věnovaných přírodním látkám (sacharidy, steroidy, terpeny, aminokyseliny aj.), ale o těch se zde nechci obšírněji zmiňovat, neboť jde o speciální názvy. Jen jediná poznámka: není pravda, že IUPAC nevydala pravidla názvosloví terpenů a jiných přírodních látek.

Pro ilustraci velkého počtu chyb v recenzované knížce se zmíním o kapitole 5, která pojednává o názvech složitých molekul. Tam je uvedeno šest příkladů názvů nepříliš složitých sloučenin. Z těchto šesti názvů jsou však čtyři špatné.

Hlavní odpovědnost za nekvalitní publikaci samozřejmě nese autor. V tomto případě však více než jinde se na této nezodpovědnosti, spíše než odpovědnosti, podílí nakladatelství Karolinum, i když se zřejmě domnívá, že se svou kouzelnou formulkou („Text neprošel jazykovou ani redakční úpravou nakladatelství.“) odpovědnosti zbaví. Ale nezbaví, už proto ne, že recenzent je jako představitel Národního centra IUPAC pro ČR několikrát v průběhu loňského roku upozorňoval na možné chyby a nabízel dokonce svou pomoc. Vše však bylo marné, nakladatelství neuznalo za vhodné ani odpovědět na nabídku.

Chemická veřejnost, ale především studenti Farmaceutické fakulty UK, kterým je publikace určena, by si jistě zasloužili, aby jí autor i nakladatelství věnovali alespoň minimální péči.

Jaroslav Kahovec

A. Reiser:
Útěk (Paměti 1920–1991)
Z anglického originálu přeložil J. Vaněk.
Academia, Praha 2003.

Není obvyklé, aby v odborném časopise byly recenzovány paměti. V případě pamětí Arnošta Reisera, žijícího významného fyzikálního chemika, je třeba učinit výjimku, protože kniha mj. podává obraz určitého období důležité chemické instituce, jíž je VŠCHT.

A. Reiser jako dítě z bohaté židovské rodiny prožil šťastné dětství a mládí v rodné Praze. Za okupace, stejně jako ostatní židovské obyvatelstvo, byl vystaven diskriminaci a perzekuci. Celá Reiserova rodina byla roku 1942 odvezena do Terezína, tam zemřel mladší Arnoštův bratr, a později do Osvětimi, kde zahynuli rodiče. Mladý A. Reiser se dostal do pracovního tábora ve Slezsku, kde jej zastihl konec války. Tuto část svého života líčí autor bez patosu a sebelítosti. Po návratu do Prahy se dal na studium chemie na pozdější VŠCHT, když předtím krátce zkusil studium botaniky na Univerzitě Karlově. Ještě během studií se stal asistentem na Katedře fyzikální chemie, kterou posléze od podzimu 1951 vedl. Na této katedře se počátkem 50. let sešli výborní pedagogové – kromě Reisera to byl E. Hála a E. Erdös. Všichni tři se brzy habilitovali (Reiser 1952, Erdös 1954 a Hála 1955). Přednášky na vysoké úrovni vedli právě Reiser s Hálou, kteří je v knižní podobě vydali v roce 1960 a 1966 pod názvem *Fysikální chemie 1 a 2*. Kdo zažil coby student tyto přednášky – jde o tisíce posluchačů a absolventů VŠCHT – potvrdí, jak kvalitní byly. Ale i studující chemie na univerzitách rádi sahali po těchto učebnicích.

Reiser s odstupem desítek let popisuje poměry, které vládly na VŠCHT v letech 1945 až 1960. Vzpomíná na mládežnické skupiny, které měly po vzoru sovětských stachanovců soutěžit mezi sebou a s jinými katedrami v počtu hodin strávených v laboratoři, v počtu složených zkoušek a v kvalitě známek – pro dnešní mladé v neuvěřitelných disciplínách. Vzpomíná i na své první přednášky před obrovským auditoriem. Reiser vypracoval systematický přednáškový plán pro předmět fyzikální chemie. A nejen to: budoval solidní vědecké základy katedry, kterou vedl. Podařilo se mu prosadit i přednášky tehdy nového oboru – kvantové mechaniky, kterou, jak Reiser píše, studenti přijali s nadšením, takže skupina posluchačů se začala kvantovou chemií vážně zabývat. Mezi nimi byl i R. Zahradník. A. Reiser se nestal obětí kádrových prověrek na VŠCHT v roce 1958, ale jeho nejbližší spolupracovníci, Hála a Erdös, museli z VŠCHT odejít. Po prověrkách začali Reiserovi komunističtí kolegové zapisovat jeho přednášky, z čehož Reiser usoudil, že jeho dny na škole jsou sečteny. Nedovedl se také vyrovnat s faktem, že totalitní komunistická moc indoktrinuje i školní děti včetně jeho vlastních. Reisera a jeho ženu se snažila získat ke spolupráci StB. Jedno k druhému vedlo A. Reisera k rozhodnutí emigrovat, což se mu podařilo v létě roku 1960. Jeho útěk byl dramatický, v dánském přístavu celá jeho rodina naskákala z trajektu do vody podobně jako den předtím rodina jeho kolegy J. Ročka, s nímž byl Reiser o útěku domluven. Reiser se usadil na řadu let v Anglii, kde pracoval v laboratořích firmy Kodak. Od roku 1982 žije v USA, naposledy jako ředitel Ústavu zobrazovacích věd při Polytechnic University v Brooklynu.

Reiserova memoárová kniha je napsána velmi čtivým slohem. Jak sám autor napsal, ač jde o pravdivý záznam jeho života (všechny události tam popsané se skutečně staly), nejde o věrné zrcadlo minulosti. Týká se to hlavně částí knihy, v nichž popisuje pobyt v Terezíně, kde ani moc nezmiňuje hlad, špínu, štěnice a trvalý strach o život, takže na první pohled jakoby šlo o běžné dospívání mladíka. V tom se právě liší od židovských autorů, kteří sdíleli podobný osud.

V knize je několik věcných nepřesností, které však nesnižují její vypovídací hodnotu. Knihu doporučuji čtenářům z řad studentů a absolventů VŠCHT z let 1945 až 1960, ti se s autorem mohli osobně setkat a ti nejlépe mohou též posoudit, co všechno je z fyzikální chemie naučil.

Jiří Jindra

F. Hampl, J. Paleček:
Farmakochemie
Vydavatelství Vysoké školy chemicko-technologické v Praze, Praha 2002.

Recenzovaná kniha navazuje na stejnojmenná skripta autorů J. Palečka a F. Hampla, vydaná v roce 1997 vydavatelstvím VŠCHT v Praze (viz Bulletin České společnosti pro biochemii a molekulární biologii *26*, 135 (1998)). Nejedná se však o reedici, ale o zcela novou a přepracovanou publikaci, určenou již nejen posluchačům oboru technologie organických výrob Fakulty chemické technologie VŠCHT Praha, ale všem případným zájemcům o tento hraniční chemicko-biologický a rychle se rozvíjející obor. Na farmakochemii, která je na fázovém rozhraní mezi chemickými a biologickými dis-

ciplínami, je pochopitelně možno nazírat z obou stran této hranice a oba pohledy nebudou zcela shodné. To, co předkládají autoři recenzované publikace, je pohled z chemické strany problému očima chemika.

Kniha poskytuje základní informace z farmakochemie, interdisciplinárního oboru, který studuje vztahy mezi chemickou strukturou látek a jejich biologickou aktivitou a hledá nové biologicky účinné struktury využitelné v humánní či veterinární medicíně. Opírá se o poznatky mnoha oborů jako je chemie, biochemie, farmakologie, toxikologie a molekulární biologie. V úvodních kapitolách definuje základní pojmy oboru a uvádí stručný přehled historie používání léčiv. Aby chemicky orientovaný čtenář pochopil, jak interaguje léčivo s biologickými strukturami v organismu, jsou vysvětleny i některé základní pojmy z farmakologie. Dále je v knize podán přehled metod používaných ve farmaceutickém výzkumu při vyhledávání potenciálních léčiv, včetně moderních přístupů jako jsou 3D QSAR či kombinatorní chemie. Jedna z kapitol je věnována otázkám registrace léčiv a správné výrobní praxe, které představují nezbytný právní rámec jakékoliv farmaceutické výroby.

Těžiště knihy spočívá v systematickém přehledu nejfrekventovanějších léčiv a jejich syntéz. Protože farmakochemie je bouřlivě se rozvíjející obor, není možné ve statické formě učebnice zachytit všechny trendy a nové směry, kterými se tento obor ubírá. Přesto se autorům knihy podařilo podat přehled velice aktuálních informací, které zahrnují nejen klasická, ale i nejnovější léčiva, ba dokonce i ta, která se nachází teprve ve stadiu preklinického či klinického zkoušení a na své uvedení do klinické praxe teprve čekají. Léčiva jsou v knize tříděna klasickým způsobem, tedy podle indikací. V úvodu každé kapitoly jsou stručně zmíněny základní informace o mechanismu účinku dané skupiny léčiv a konkrétní léčiva uváděná v jednotlivých kapitolách a jejich syntézy představují reprezentativní příklady známých léčiv široké spotřeby.

Autorům publikace se podařilo vměstnat do čtyř set stran textu informace o všech nejdůležitějších skupinách léčiv a charakterizovat je po stránce chemické a farmakologické natolik důkladně, že kniha může sloužit jako kompendium, po němž rádi sáhnou i ti, co již mají vysokoškolský diplom v kapse, ale občas potřebují rychle nalézt informaci nebo si osvěžit své vědomosti o nějakém léku. V rychlé orientaci pomáhá čtenáři podrobný věcný rejstřík, umístěný na konci knihy. Text knihy je velmi konzistentní, srozumitelný a čtivý, čemuž napomáhá i 42 obrázků a 19 originálních a svérázných ilustrací Ing. Jana Budky.

Recenzovaná kniha je dobře a moderně napsané dílo přesahující rámec VŠCHT, které nalezne své místo zejména v knihovnách chemiků a farmaceutů pracujících ve farmaceutickém výzkumu a vývoji, ve výrobě léčiv či v distribuci farmaceutických výrobků. Čerpat vědomosti z něj mohou ale i četní chemicky a biologicky orientovaní čtenáři. Kniha je pravděpodobně tím nejlepším, co bylo v oboru farmaceutické chemie u nás napsáno a její autoři v ní v plné míře uplatnili své bohaté odborné i pedagogické zkušenosti. Zárukou kvality díla jsou i jména obou odborných lektorů, prof. MUDr. Karla Maška, DrSc., a Ing. Stanislava Rádla, CSc., kteří vývoji nových léčiv zasvětili celý svůj dosavadní život.

Knihu mohu doporučit všem, kteří se zajímají o léčiva, jejich chemickou strukturu i jejich farmaceutické účinky. Doporučuji také s nákupem knihy dlouho neváhat, protože bude zcela určitě rozebrána stejně rychle, jako stejnojmenná skripta vydaná oběma autory v roce 1997.

Jiří Patočka

N. Arnold:
Chemický chaos/O čem se vám učitelé chemie neodvažují říct
Egmont, Praha 2002.

O čem se nám učitelé chemie neodvážili říct

Ačkoliv první chemické poznatky sahají daleko za hranice našeho letopočtu, novodobá chemie má za sebou teprve přibližně 200 let. Ještě okolo roku 1800 se většina vzdělaných lidí domnívala, že chemie je ztřeštěný nápad. Budoucího slavného mnohostranného vědátora obzvláště v oblasti organické chemie Justuse von Liebiga (1803–1873) káral ve škole učitel za to, že věčně nemá napsané úkoly. Pedagog se ho ptal, čím chce být a Justus odpověděl, že chemikem. V tom okamžiku celá třída propadla záchvatu hlasitého smíchu. Nikomu nepřišlo na mysl, že by se chemie dala studovat! Bohužel, díky tradičně suchopárným učebnicím a neatraktivním způsobům výuky patří i v současnosti chemie mezi nejméně oblíbené učební předměty na všech typech škol. Zázraky se však občas konají! Jinak totiž dnes nelze nazvat vydání titulu s ryze chemickou tématikou, navíc zajímavou a především čtivou. Toto překvapení připravilo pražské nakladatelství Egmont ve své zábavně-vědecké edici „Děsivá věda“.

Knížka *Chemický chaos/O čem se vám učitelé chemie neodvažují říct* je překladem anglického originálu z pera publicisty Nicka Arnolda a ilustrátora Tony De Saullese (Londýn 1997) a vtáhne všechny zájemce přímo do víru nevypočitatelných chemických reakcí. Dozví se zde o riskantních experimentech, ze kterých vzešly hrozivé nehody, zjistí tajemství „potrhlých“ vědců a jejich objevů a dokonce si mohou několik chemických pokusů vyzkoušet v pohodlí domácí kuchyně. Nechybí ani oblíbené komiksové vtipy, přehledy faktů, haly slávy chaotických chemiků, průvodce podivnými chemickými prvky, záludné kvizy a chytáky pro učitele chemie (někdo si přidává čaj do šálku s mlékem a někdo naopak lije mléko do čaje, budou mít výsledné nápoje stejnou chuť a když ne, tak proč?). Také vaření je celé o chemii od přípravy podezřelé substance zvané oběd až po bubliny, které vznikají při pečení v koláčích.

V knížce nenajdeme informace, které se učí ve škole, nýbrž věci zvláštní a legrační. Kde jinde bychom zjistili, proč se skleněné oči nevyrábějí ze skutečného skla, jaké složení má bomba, která páchne víc než cokoli na světě, z čeho si můžeme vyrobit vlastní zubní pastu a řadu dalších ošemetných podrobností, o kterých se v učebnicích chemie nedočteme. „Chemický chaos“ může pěkně zavařit mozek nejen žákům a studentům, ale i dospělým se zájmem o chemické vědy.

Bohumil Tesařík