

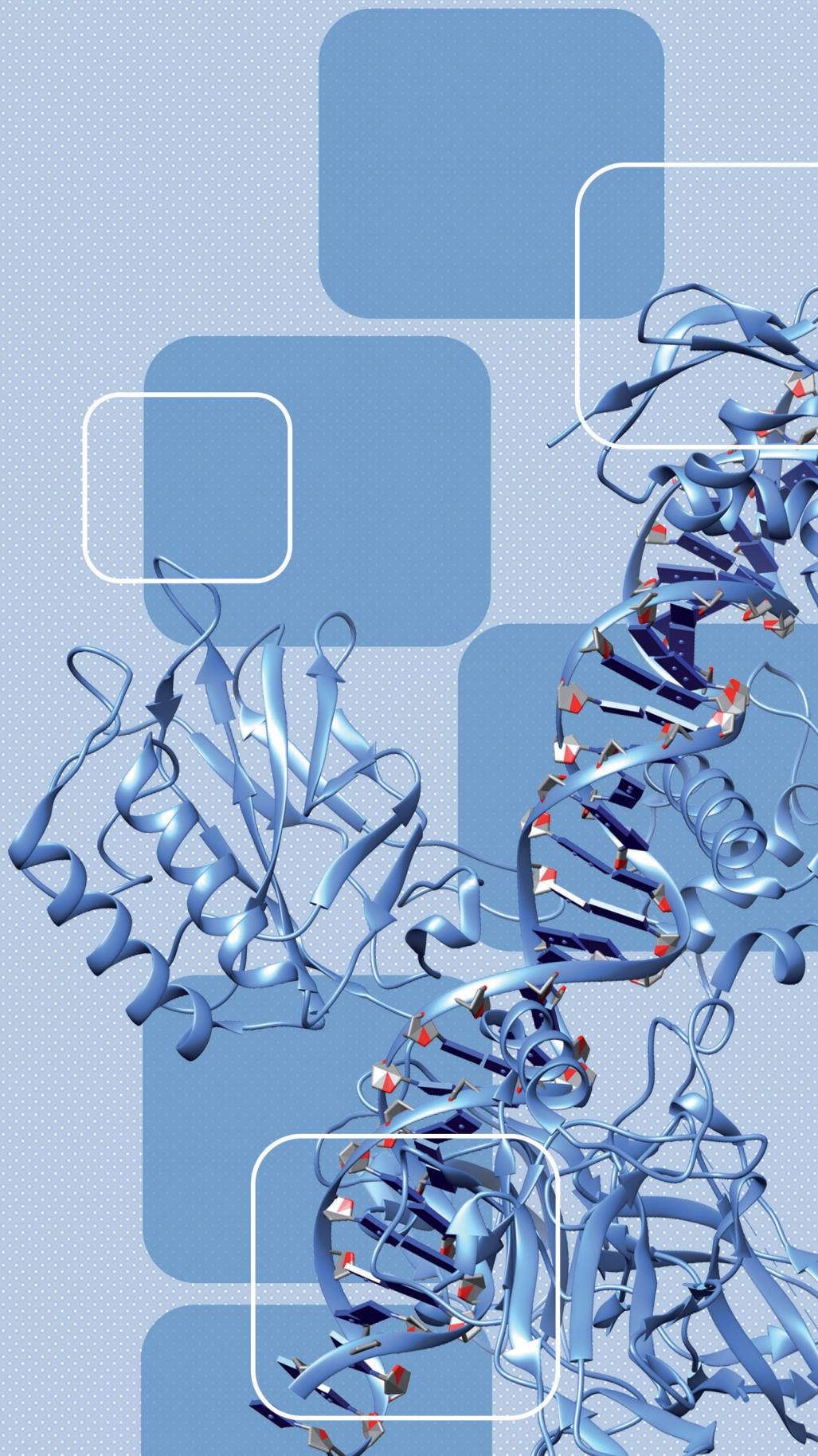
Bio

Ročník 31 • Číslo 4/2021

prospect

**BULLETIN
BIOTECHNOLOGICKÉ
SPOLEČNOSTI**

zakládajícího člena
Českého svazu
vědeckotechnických
společností (ČSVTS)
a
člena „European
Federation
of Biotechnology“
(EFB)



Bio prospect

Society address: University of Chemistry and Technology, Technická 3, 166 28 Prague 6, Czech Republic.
Tel.: 420-220 443 151, fax: 420-233 334 769, e-mail: danka.pokorna@vscht.cz, IČO 00570397,
account No.: 19534-061/0100 Komerční banka Praha 6, Dejvická 52, SWIFT CODE: COMBCZTPP

Czech Republic Regional Branch Office as a bridge between European Federation of Biotechnology and Czech Biotechnology Society is located in the Centre of the Region Hana for Biotechnological and Agricultural Research, Šlechtitelů 21, 783 71 Olomouc, Czech Republic

BULLETIN OF CZECH BIOTECHNOLOGY SOCIETY

**founding member of the Czech Association of Scientific
and Technical Societies – <http://en.csvts.cz>**

**and
member of European Federation of Biotechnology
<http://www.efbiotechnology.org>**

Bioprospect, the bulletin of the Biotechnology Society is a journal intended to inform the society members about the most recent developments in this field. The bulletin should supply the vitally important knowledge directly to those who need it and to those who are able to use it properly. In accordance with the rules of the Society, the Bulletin also deals with both theoretical and practical questions of biotechnology. Articles will be published informing about the newest theoretical findings, but many planned papers are devoted to fully practical topics. In Czech Republic there is a growing gap between basic research and production. It is extremely important to reverse as soon as possible the process of further opening of the scissors, and we hope the Bulletin will help in this struggle by promoting both research and practice in our biotechnology. The Bulletin should facilitate the exchange and targeted delivery of information. The editorial board welcome advertisements of products such as chemicals, diagnostics, equipment and apparatus, which have already appeared

on the Czech market, or are projected, enter it. Services, free R&D or production facilities can also be advertised. The editorial board, together with the executive committee of the Biotechnology Society, hope that maybe some information published in the Bulletin, or some new contacts based on it, will give birth to new cooperation with domestic or foreign research teams, to collaborations, joint ventures or strategic alliances providing access to expertise and financing in international markets.

The editorial board invites all of You, who are involved in the field called biotechnology, and who are seeking contacts in Czech Republic, to advertise in the Bulletin BIOPROSPECT, which is mailed directly to more than one and a half thousand Czech biotechnologists.

For more information contacts the editorial board or directly:

Petra Lipovová, Ph.D. (editor in chief)
UCT, Technická 3
166 10 Prague 6, Czech Republic
Phone +420 220 443 028
e-mail: petra.lipovova@vscht.cz

ÚVODEM

Vážení přátelé,

jak všichni víte, letošní rok byl velmi náročný. Snažili jsme se eliminovat resty vzniklé coronavirovou pandemií v minulém roce, a navíc museli řešit nově vzniklé problémy způsobené nečekaně silnou novou pandemickou vlnou. Perfektně připravenou mezinárodní konferenci Biotech 2020 na červen 2020 jsme odložili o rok v naději, že ji příští rok zrealizujeme v plánovaném rozsahu. Již na začátku letošního roku bylo zřejmé, že pokud konferenci chceme realizovat, a ne ji zrušit, je virtuální forma jedinou alternativou. S takovou organizací jsme ovšem nikdo neměl zkušenosti. Musíme tedy velmi poděkovat všem členům organizačního výboru za nesmírné úsilí, kterým se podařilo tuto mezinárodní událost úspěšně realizovat. Bylo ovšem třeba provést řadu organizačních změn (místo původně plánovaných tří paralelních sekcí realizovat dvě, což se podařilo snížením počtu hodinových přednášek a nutností zrušit exkurse a doprovodný program). Virtuální program přinesl i částečné oslabení spolupráce se švýcarskými partnery a různými spolupracujícími organizacemi.

Na druhé straně je možno velice pozitivně hodnotit, že na sympoziu participovali účastníci ze 23 zemí, pochopitelně nejvíce z České republiky (190) a Švýcarska (13), dále z Číny (9), Německa (7), Ruska (6), Itálie (4), Srbska (4), Lucemburska (3), Rakouska (3), Slovenska (2), Velké Británie (2), Chile (1), Japonska (1), Portugalska (1), Polska (1), Nizozemska (1), Rumunska (1), Izraele (1), Bulharska (1), Albánie (1), Belgie (1), Nového Zélandu (1) a Maďarska (1).

Na konferenci byly předneseny 3 plenární přednášky, 52 ústních sdělení a prezentováno 50 posterů. Celý průběh konference, včetně záznamu o jejím zahájení, včetně projevů předsedkyně ČSAV pí. prof. RNDr. Evy Zažímalové, CSc. a pana rektora VŠCHT prof. Dr. RNDr. Pavla Matějky naleznete na webové stránce konference www.biotech2020.cz.

Abstrakta si otevřete na webové stránce konference www.biotech2020.cz, Virtual Conference a Book of Abstract – Download.

nebo přímo: <https://www.biotech2020.cz/book-of-abstracts/> a download.

Abstrakta přednášek a posterů nahrazují vydání druhého a třetího čísla Bioprospectu.

Covidová pandemie, která si vyžádala nesmírné zatížení pedagogických pracovníků (příprava virtuálních přednášek aj.), vědeckých pracovníků i studentů snížila možnost věnovat se obvyklé publikační aktivitě. Nedostatkem prací trpí v současné době i celá řada komerčních časopisů.

Dále bychom Vás rádi informovali, že se připravuje speciální číslo prestižního časopisu Biotechnology Advances (IF = 14,227) pod názvem Biotechnology Noveltis, které bude publikováno v příštím roce nakladatelstvím Elsevier a bude obsahovat přehledné články založené na vybraných prezentacích přednesených na našem virtuálním sympoziu Biotech 2020.

V našem úvodníku prvního letošního čísla jsme se stručně zmínili o trendech vývoje vakcín proti COVIDU-19. Vývoj vakcín intenzivně pokračuje tak, aby byly účinné proti novým mutacím, zajišťovaly prodlouženou imunitu a také aby byly stabilní při skladování, transportu, vysokých teplotách a vzhledem k dalším problémům spojeným s jejich použitím v různých klimatických podmínkách. Pro seznámení s těmito přístupy doporučujeme sledovat časopis Biopharm International (např. z května 2021, Vol. 34, No. 5). Dalším trendem je úprava testovacích technik umožňujících provádět vysoké počty PCR-testů (např. LabMedica International Vol. 38, No. 6, 10/2020) umožňující realizovat 2 miliony testů během týdne a údajně by byli schopni tuto kapacitu i zdvojnásobit.

Závěrem našeho krátkého úvodníku bychom Vás rádi požádali o intenzivnější spolupráci při vydávání našeho Bioprospectu, kde rádi uveřejníme i stručné informace o novinkách, které Vás zaujaly, o tom, co se děje ve Vašem okolí a velice uvítáme všechny zájemce o pravidelnou spolupráci v redakční radě i orgánech naší Biotechnologické společnosti.

Letošní rok se chýlí ke konci, a proto Vám všem přejeme příjemné prožití vánočního času a po celý rok pevné zdraví, pracovní úspěchy a pohodu nejen Vám, ale i všem Vám blízkým.

Vaši

Jan Káš a Petra Lipovová

*Příjemné prožití vánočních svátků
a po celý příští rok pevné zdraví,
spokojenost, pohodu, štěstí
a mnoho úspěchů*

přejí

*za Biotechnologickou společnost
a redakci Bioprospectu*

Jan Káš a Petra Lipovová



Tisková zpráva

Přípravek SOT101 má slibné výsledky u pacientů s pokročilými pevnými nádory

- **U většiny pacientů, kterým byl přípravek SOT101 (SO-C101) podáván v kombinační části klinické studie, byl zaznamenán klinický přínos terapie.**
- **Pozitivní odezva na podání hodnoceného přípravku byla pozorována i u pacientů, u nichž došlo během předchozí léčby PD-1 inhibitory ke zhoršení onemocnění.**
- **Přípravek SOT101 byl dobře tolerován u pacientů s pokročilými/metastazujícími pevnými nádory, a to jak v rámci monoterapie, tak i při kombinaci s pembrolizumabem.**

Praha, 12. listopadu 2021

SOTIO Biotech, biotechnologická společnost vlastněná skupinou PPF, zveřejnila nová data z probíhající klinické studie AURELIO-03 fáze 1/1 b hodnotící přípravku SOT101 na bázi interleukinu IL-15 u pacientů s pokročilými a metastazujícími nádory. Informace budou v sobotu 13. listopadu sdíleny s odbornou veřejností v rámci tří prezentací na 36. výročním zasedání Společnosti pro protinádorovou imunoterapii (Society for Immunotherapy of Cancer, SITC), které se koná ve dnech 10. – 14. listopadu 2021 v americkém Washingtonu.

SOT101 je přípravek, který stimuluje imunitní systém tak, že aktivuje bílé krvinky, hlavně T-lymfocyty nebo NK buňky, aby zabíjely nádorové buňky. V imunoonkologii jde o velmi nadějnou terapeutickou látku, která se navíc dobře kombinuje se zavedenými onkologickými léky.

V rámci klinické studie AURELIO-03 byl u většiny z 13 pacientů s pokročilými/metastazujícími pevnými nádory prokázán klinický přínos kombinace přípravku SOT101 s pembrolizumabem, včetně pacientů, u nichž nepomohla předchozí léčba tzv. checkpoint inhibitory (CPI). V rámci studie, jejímž cílem je nalézt správnou dávku přípravku, lékaři účastníci se klinického hodnocení zaznamenali tři potvrzené částečné odpovědi na léčbu a čtyři případy dlouhodobé stabilizace onemocnění u pacientů, kteří již absolvovali jiné formy léčby. Kombinace přípravku SOT101 s pembrolizumabem byla také dobře tolerována organismem pacientů.

V části studie zaměřené na užití SOT101 jako monoterapie (bez kombinace s jinými druhy léčby) byly

u 30 pacientů s pokročilými či metastazujícími pevnými nádory prokázány slibné známky účinnosti přípravku, včetně pacientů u nichž nepomohla předchozí léčba CPI. Doposud byla potvrzena jedna klinická i radiologická odpověď na léčbu a čtyři případy dlouhodobé stabilizace onemocnění. Jeden pacient dále vykázal částečnou odpověď na léčbu SOT101 v kombinaci s pembrolizumabem poté, co během monoterapie přípravkem SOT101 došlo k návratu onemocnění. SOT101 byl organismem dobře snášen bez významnějších vedlejších účinků. V rámci studie byla stanoveno doporučená dávka pro připravovanou další studii fáze 2.

„Prezentované výsledky jsou velmi nadějně a pomáhají stanovit další směřování našeho klinického vývoje. Přípravek SOT101 prokázal v klinické studii vysokou úroveň bezpečnosti a slibnou účinnost jako monoterapie i v kombinaci s pembrolizumabem,“ říká prof. Radek Špišek, generální ředitel SOTIO. „Odpovědi na hodnocený léčivý přípravek pozorované u pacientů s pokročilými pevnými nádory jsou povzbudivé. Věříme,

že další vývoj přípravku SOT101 naváže na dosavadní výsledky jak v rámci probíhající klinické studie fáze 2, tak i připravované velké studie fáze 2, která bude zahájena během příštího roku.“

Vedoucí lékař koordinující klinickou studii s přípravkem SOT101, imuno-onkolog z pařížského Ústavu Gustava Roussyho, prof. Aurélien Marabelle, dodává: „Ačkoli jsme byli v posledním desetiletí svědky významného pokroku v oblasti vývoje nových onkologických léčiv, stále naléhavě potřebujeme nové terapeutické možnosti pro pacienty s různými druhy nádorových onemocnění. Data prezentovaná na letošní konferenci SITC prokazují velký potenciál přípravku SOT101 u léčby pokročilých nebo metastazujících pevných nádorů.“

Všechny prezentace jsou dostupné na internetových stránkách společnosti SOTIO Biotech.

O přípravku SOT101:

Přípravek SOT101 je fúzní protein IL-15 a IL-15R α . Jedná se o nový imunoterapeutický přístup s potenciálním využitím u řady onkologických onemocnění. SOT101 prokázal velmi silnou účinnost v různých pře-

klinických nádorových modelech v oblastech zvýšení délky dlouhodobého přežití, regrese nádoru a příznivého toxikologického profilu. V preklinických modelech byla prokázána schopnost SOT101 zvyšovat účinnost dalších metod léčby, například checkpoint inhibitorů (CPI). SOTIO zahájilo první klinickou studii s přípravkem SOT101 v roce 2019.

O konferenci SITC:

Společnost pro protinádorovou imunoterapii (SITC) každoročně pořádá největší světovou konferenci zaměřenou výhradně na oblast využití imunoterapie v boji s onkologickými onemocněními. Setkává se na ní více než 5000 odborníků z celého světa, vědců, lékařů, zástupců biotechnologických a farmaceutických firem i specialistů z regulatorních a státních institucí.

Kontakt:

Richard Kapsa

ředitel komunikace

T: (+420) 224 174 448

M: (+420) 603 280 971

kapsa@sotio.com

O společnosti SOTIO Biotech

SOTIO Biotech je mezinárodní biotechnologická společnost, která zastřešuje aktivity skupiny PPF v oblasti výzkumu a vývoje nových protinádorových léčiv. Produktové portfolio společnosti zahrnuje přípravky na bázi interleukinu IL-15, platformu buněčné terapie CAR T, i novou generaci protinádorových přípravků na bázi konjugátu protilátky a léku (ADC).

Více informací na adrese: www.sotio.com.

SOTIO je registrovaná ochranná známka společnosti SOTIO Biotech, a. s. ve vybraných zemích.



PROJEKT XENOPIG – BUNKOVÉ INŽINIERSTVO A TRANSPLANTAČNÁ CHIRURGIA V BOJI PROTI NÁDOROM PANKREASU

Ján Strnadel¹, Jana Juhásová², Romana Záhumenská¹, Sandra Meršáková¹, Dominika Hajdúchová³, Michal Pokusa³, Blažej Palkoci⁴, Martin Vojtko⁴, Miroslav Pindura⁴, Roman Kyčina⁴, Marek Smolár⁴, Vladimír Nosál⁵, Michal Kalman⁶, Juraj Marcínek⁶, Lukáš Plank⁶, Martin Kertys⁷, Nela Žideková⁷, Kristián Pršo⁷, Slavomíra Nováková¹, Henrieta Škovierová¹, Katarína Janíková¹, Mária Škereňová¹, Andrea Kapinová¹, Hana Studenovská⁸, Barbora Mitrušková⁹, Marián Grendár¹, Vincent Lučanský¹, Dušan Braný¹, Zuzana Danková¹, Ľudovít Laca⁴, Ján Janík⁴, Erika Halašová¹, Štefan Juhás²

¹Martinské centrum pre biomedicínu (BioMed Martin), Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovenská republika

²Ústav živočíšnej fyziológie a genetiky AV ČR, v.v.i, Liběchov, Česká republika

³Ústav patologickej fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovenská republika

⁴Chirurgická klinika a transplantačné centrum, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovenská republika

⁵Neurologická klinika, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave a Univerzitná nemocnica Martin, Slovenská republika

⁶Ústav patologickej anatómie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovenská republika

⁷Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovenská republika

⁸Ústav makromolekulárnej chémie AV ČR, Praha, Česká republika

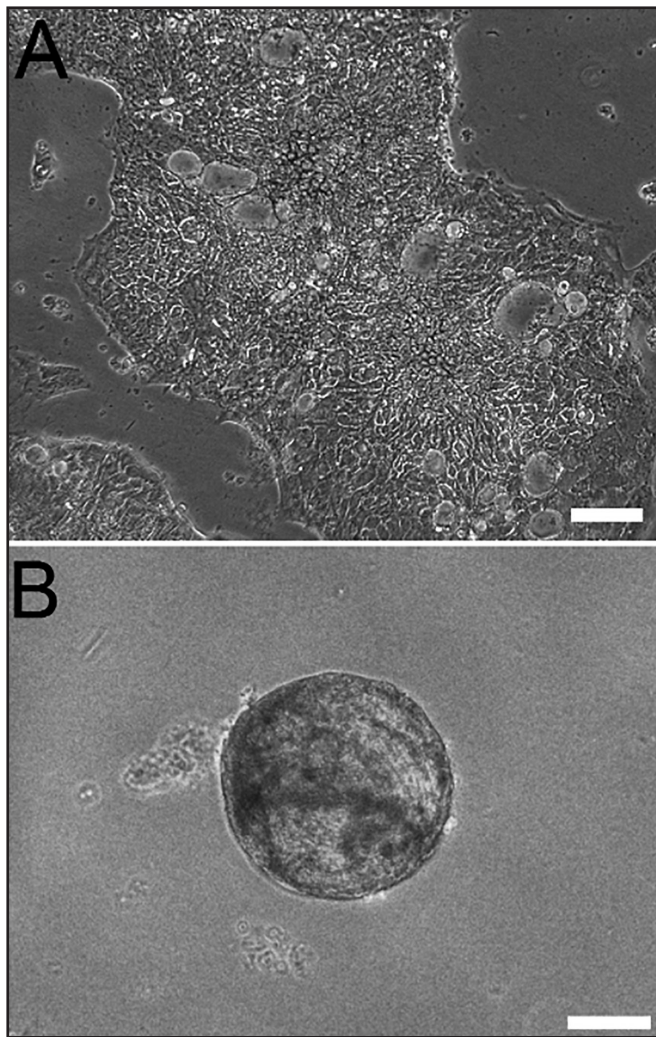
⁹Oddelenie lekárskej genetiky, Univerzitná nemocnica Martin, Slovenská republika
jan.strnadel@uniba.sk

Úvod

Duktálny adenokarcinóm (PDAC) predstavuje jednu z najagresívnejších foriem nádorov pankreasu u ľudí. Incidencia tohto typu nádoru sa neustále zvyšuje. Včasná diagnostika nie je úspešná kvôli absencii vhodných biomarkerov¹. K manifestácii nádoru tak dochádza až v čase, keď je akákoľvek liečba neúčinná, pričom terapeutické možnosti sú pri tomto nádore značne obmedzené. Len malú časť pacientov je možné liečiť chirurgickou resekciou nádoru. Prežívanie pacientov s duktálnym adenokarcinómom je jedným z najnižších zo všetkých nádorových ochorení a to aj napriek obrovskému úsiliu množstva výskumných laboratórií a objemu investovaných finančných prostriedkov². Jednou z možných príčin nášho neúspechu v boji proti nádorom pankreasu môže byť nedostatok vhodných *in vitro* (bunkových) a *in vivo* (živočíšnych) modelov. Z týchto dôvodov Martinské centrum pre biomedicínu (Biomed, Jesseniova lekárska fakulta UK, Slovenská republika) spolu s Ústavom živočíšnej fyziológie a genetiky, v.v.i. AV ČR v Liběchově vytvorilo koncept projektu s cieľom vyvinúť nový predklinický model pre duktálny adenokarcinóm. Niekoľkoročné skúsenosti s derivovaním unikátnych ľudských 3D nádorových a nenádorových (iPSc) línií na jednej strane a prítomnosť veľkých hereditárnych (MeLiM), aj génovým inžinierstvom pripravených živočíšnych modelov (model Huntingtonovej choroby) a technológie ich využitia na strane druhej dáva tejto spolupráci reálnu šancu, že nami vytvorený model posunie možnosti výskumu a liečby nádorov pankreasu dopredu.

In vitro nádorové modely

Modelovanie nádorov v *in vitro* podmienkach je tradične realizované bunkovými líniami. Ide hlavne o tzv. 2D bunkové línie, ktorých kultivácia je jednoduchá a relatívne nenáročná na skúsenosti (Obr. 1 A). Pre ľudský duktálny adenokarcinóm pankreasu existuje niekoľko bunkových línií, ktoré sa v súčasnosti využívajú vo výskume. Sú dostupné komerčne alebo cez tzv. bunkové repozitórny centrá (ATCC a pod.). Použitie komerčne dostupných línií je výhodné z viacerých hľadísk – z časového, ekonomického a aj kvôli faktu, že k takýmto líniam je možné nájsť množstvo publikovaných informácií. Nevýhodou týchto bunkových modelov je, že v dôsledku tisícov pasáží dochádza nevyhnutne k tvorbe nových mutácií a nový mutačný fenotyp takejto bunkovej línie už nie je obrazom pôvodného ľudského nádoru⁴. Z tohto dôvodu niektoré laboratória preferujú časovo aj finančne náročnejšiu prípravu nových bunkových línií a ich použitie v skorých pasážach kultivácie. Efektivita izolácie novej bunkovej línie závisí od viacerých faktorov (prístupu k čerstvej vzorke nádoru, skúsenosti výskumného tímu, použitého protokolu izolácie) a zvyčajne sa pohybuje na úrovni 5 – 30 %. Napriek relatívne malej úspešnosti a časovej a finančnej náročnosti procesu izolácie novej bunkovej línie je vytvorenie každého nového bunkového modelu vítané, pretože navyšuje výskumný arzenál v oblasti onkologického výskumu. Vytvorenie novej bunkovej línie väčšinou aj zvyšuje záujem iných výskumných pracovníkov o spoluprácu s pracoviskom, v ktorom bola bunková línia vytvorená. Tvorba nových bunkových línií



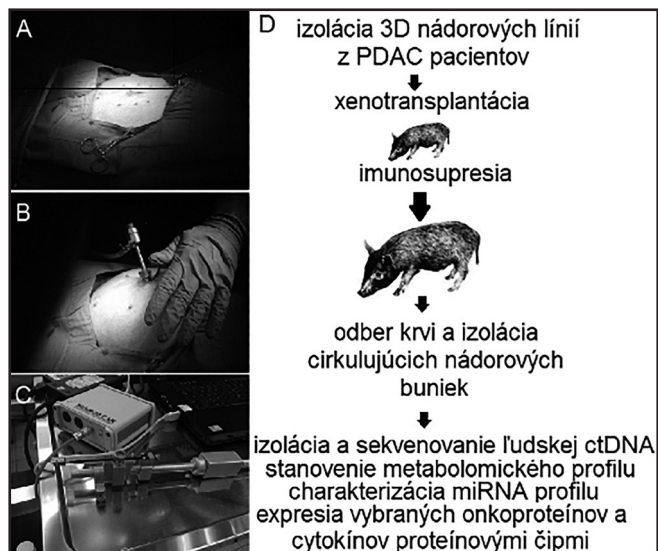
Obr. 1. Nádorové bunky, rastúce v 2D (A) a 3D (B) kultúre vo forme sféroidu. Zdroj – vlastné experimenty, mierka predstavuje 20µm (A) a 500 µm (B).

je niekedy stimulovaná aj samotnou vedeckou komunitou – napr. v roku 2015 bola cez portál Innocentive vyhlásená výzva na tvorbu bunkových línií, odvodených z neuroendokrinných nádorov (NET). Pre výskum týchto raritných nádorových ochorení vtedy neboli dostupné takmer žiadne bunkové línie. Spoločnosť Neuroendocrine Tumor Research Foundation⁵ (Boston, USA) vtedy vyčlenila sumu takmer 600 000 amerických dolárov pre laboratórium alebo laboratória, ktoré NET bunkovú líniu vyrobí. V histórii portálu Innocentive to bola jedna z najväčších odmien, alokovaných za splnenie zadanej úlohy. Člen vedeckého tímu Martinského centra pre biomedicínu pripravil a charakterizoval vôbec prvú 3D nádorovú líniu, pochádzajúcu z NET pankreasu. Táto línia bola evaluovaná v laboratóriách Harvardovej univerzity v Bostone a aj keď s veľkou pravdepodobnosťou nebude medzi výhernými bunkovými líniami (pacient zomrel skôr, ako mal možnosť podpísať dodatočný informovaný súhlas umožňujúci okrem vedeckého využitia línie aj jej komerčnú distribúciu), záujem, ktorý vyvolala potvrdzuje trend v tejto oblasti – neustále sa zvyšujúci záujem o tzv. 3D bunkové kultúry. Nádorové bunky, rastúce vo forme sféroidov (Obr. 1 B) svojou 3D architektúrou lepšie modelujú reálny nádor⁶. 3D bunkové línie tiež umožňujú včasnú elimináciu experimen-

tálnych liečiv, ktoré sa napriek účinnosti na 2D bunkových kultúrach neskôr ukázali neúčinné pri skúšaní na experimentálnych zvieratách. Rozvoj v oblasti kultivačných techník a definovaných syntetických extracelulárnych komponentov spolu s pokrokmi v oblasti 3D tlače biologických systémov priniesol v oblasti 3D modelovania nádorov veľa nových možností. V súčasnosti je evidentný záujem o nahradenie štandardnej 2D platformy *in vitro* modelovania nádorov 3D systémom.

***In vivo* modelovanie PDAC**

In vivo modelovanie nádorov pankreasu reprezentujú animálne modely, ktoré je možné rozdeliť do niekoľkých skupín: spontánne modely, chemicky indukované živočíšne modely, modely pripravené metódami génového inžinierstva a transplantácie modely. Vo väčšine prípadov však ide o malé živočíšne modely, založené na myšiach⁷, potkanoch a dokonca rybičkách⁸ (*Danio rerio*). V roku 2017 publikovala skupina z Univerzity v Illinois⁹ v USA vytvorenie KRAS a p53 mutovaného transgénného modelu PDAC na veľkom živočíšnom modeli – prasati (*Sus scrofa*). Prasa predstavuje veľký živočíšny model, ktorý je na úrovni fyziologickej, anatomickej a imunologickej veľmi podobný človeku a má preto potenciál byť vhodným modelovým zvieratom. Oproti primátom je prasa výhodnejšie aj z hľadiska etických otázok, keďže je to zviera, ktoré človek chová ako hospodársky druh. Nevýhodou vyššie spomenutého nádorového modelu však ostáva fakt, že ide o prasačie, nie ľudský pankreatický nádor. Z tohto dôvodu sme sa rozhodli pripraviť projekt vývoja nového prasačieho modelu na modelovanie ľudských PDAC nádorov (Obr. 2i). Podstatou nového modelu bude ortotopická xenotransplantácia novovytvorených ľudských 3D nádorových línií do pankreasu imunosuprimovaného prasaťa. Keďže v repertoári Martinského centra pre biomedicínu sú aj nádorové bunkové línie, odvodené z metastáz PDAC v pečeni, uvažujeme aj o vytvorení metastatického modelu priamou transplantáciou týchto nádorových buniek do pečene (išlo by teda o *in situ* vytvorenie metastatického ložiska). Ďalším metastatickým modelom by mohli byť zvieratá, ktoré by boli transplantované bunkovou líniou s veľkou metastatickou schopnosťou, priamo do pankreasu. Transplantácie plánujeme realizovať štandardnými (open-field surgery) a neskôr aj menej invazívnymi operačnými technikami (laparoskopiou) (Obr. 2 A-C). Laparoskopický prístup by zároveň využil aj na priebežný monitoring rastu nádorov. Pri príprave modelu bude transplantovaná suspenzia 3D nádorových sféroidov s podchladeným roztokom extracelulárnych (tzv. matrix) proteínov. Extracelulárne proteíny v zmesi podstatne zvyšujú efektivitu transplantácie a majú ešte jednu zaujímavú vlastnosť – v podchladenom stave je zmes takýchto proteínov tekutá a tuhne resp. polymerizuje až pri kontakte so zvýšenou teplotou transplantovaného orgánu. Tým vlastne zároveň vytvorí akúsi „zátku“, zabráňujúcu spätnému toku suspenzie transplantovaných buniek z miesta aplikácie. V rámci projektu plánujeme vytvoriť vhodný aplikátor resp. katéter na aplikáciu takejto suspenzie návrhom dvojplášťového, vodou chladeného zariadenia



Obr. 2. Schéma projektu XenoPig (D) a obrázky z pilotného transplantáčného experimentu (príprava laparoskopického prístupu transplantácie (A,B) a detail injekčnej pumpy na dávkovanie suspenzie buniek (C)).

s nútenou cirkuláciou chladiacej vody. Na zabránenie odmietnutia ľudských nádorových buniek imunitným systémom prasaťa sa použije unikátna forma imunosupresie, pripravená Dr. Hanou Studenovskou z Ústavu makromolekulárnej chémie AV ČR v Prahe. Podstatou tejto imunosupresie sú polymérne častice¹⁰, obsahujúce imunosupresívum Tacrolimus, ktoré je po jednorazovej podkožnej injekčnej aplikácii kontinuálne uvoľňované do organizmu zvieraťa po dobu dvanástich dní (odpadá tým každodenná nutnosť injekčnej aplikácie imunosupresíva). Množstvo uvoľneného Tacrolimu je možné zároveň aj regulovať a to množstvom aplikovaných polymérnych častíc.

Využitie XenoPig modelu na hľadanie biomarkerov pre PDAC

Vytvorený živočíšny model s rastúcim ľudským nádorom pankreasu zároveň plánujeme použiť v sérii experimentov, zameraných na biomarkerové profilovanie ľudského duktálneho adenokarcinómu na viacerých úrovniach: i) molekulárnej, ii) metabolomickej, iii) sekretomickej a iv) bunkovej. V prípade molekulárneho profilovania sa bude izolovať a následne sekvenovať cirkulujúca ľudská nádorová DNA z krvi zvierat s rastúcim nádorom. Vzhľadom na fakt, že jediným možným zdrojom sekvencií ľudskej DNA v modelovom zvierati je práve rastúci nádor predpokladáme, že bude možné „zviditeľniť“ aj DNA sekvencie, ktorých detekcia nie je možná pri podobných analýzach na ľudských pacientoch. Vhodnou úpravou množstva transplantovaných buniek bude možné navýšiť koncentráciu cirkulujúcej DNA tak, aby ju bolo možné bez problémov identifikovať. V rámci molekulárno-biologických analýz sa pozrieme aj na celkový miRNA profil rastúceho nádoru. V prípade metabolomických analýz využijeme skúsenosti našej metabolomickej výskumnej jednotky (Laboratórium farmakokinetiky) s profilovaním nádorových modelov¹² na cieľnú detekciu v zmene cca 180 rôznych me-

tabolitov. Na úrovni sekretomiky budeme analyzovať expresiu 84 onkoproteínov a 104 cytokínov (signálnych proteínov) v krvi zvierat s rastúcimi nádormi metódou multiplexových protilátkových čipov. Poslednou, ale rovnako dôležitou analýzou bude fenotypová analýza cirkulujúcich ľudských nádorových buniek prietokovou cytometriou po ich izolácii z krvi zvierat s rastúcimi nádormi metódou tzv. magnetického sortingu. Kontrolnú skupinu zvierat budú tvoriť jedince transplantované s ľudskými pankreatickými prekursorovými bunkami, derivovanými z krvných alebo kožných buniek zdravého darcu pomocou technológie indukovanej pluripotenencie. Táto technológia, vyvinutá v roku 2006 japonským lekárom Shinyom Yamanakom¹¹ a ocenená Nobelovou cenou v roku 2012, umožňuje premenu akejkoľvek somatickej, finálne diferencovanej bunky na bunku pluripotentnú (kmeňovú). Následnou riadenou diferenciáciou je možné z takýchto kmeňových buniek (nazývaných aj indukované pluripotentné kmeňové bunky) vytvoriť akýkoľvek iný typ bunky pre terapeutické alebo experimentálne účely. Uvedená metóda reprogramovania buniek bola úspešne zavedená na pôde Jesseniovej lekárskej fakulty a viedla aj k vytvoreniu vôbec prvej slovenskej iPSc bunkovej línie¹³.

Záver

Prebiehajúca niekoľkoročná spolupráca medzi Jesseniovou lekárskou fakultou UK v Martine a Ústavom živočíšnej fyziológie a genetiky, AV ČR v Liběchově v oblasti použitia prasačieho modelu na transplantáciu iPSc-derivovaných neurálnych prekursorov a niekoľkoročné skúsenosti s nami zavedenou technológiou prípravy 3D nádorových a iPSc-derivovaných bunkových línií nás priviedla k myšlienke vývoja nového modelu na modelovanie ľudských PDAC nádorov. Ústav živočíšnej fyziológie a genetiky AV ČR (UŽFG) v Liběchově disponuje kompletným technologickým vybavením a know-how v oblasti génovej manipulácie, embryo transferu a aj vlastným chovom prasiat. Spojenie technických možností s know-how oboch inštitúcií predstavuje reálny základ prípravy modelu s kódovým označením XenoPig, ktorý bude následne k dispozícii vedeckým pracoviskám a farmaceutickým spoločnostiam. O využitie modelu už prejavili záujem viaceré pracoviská. Martinské centrum pre biomedicínu, na Jesseniovej lekárskej fakulte UK v Martine použije novovyvinutý model na komplexnú charakterizáciu ľudského pankreatického duktálneho adenokarcinómu a profilovanie biomarkerov na viacerých úrovniach.

Podakovanie

Táto publikácia vznikla vďaka podpore grantov Vedeckej grantovej agentúry Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky a Slovenskej akadémie vied (VEGA 1/0279/18) a Agentúry na podporu výskumu a vývoja (APVV-17-0037). Projekt podporil aj výskumný program č. 18 „Preklinické testovanie potenciálnych liečiv“ Strategie AV21 (Akademie věd ČR) a projekt Institucionální podpory RVO: 67985904.

Referencie

1. Singhi AD, Koay EJ, Chari ST, et al.: *Gastroenterology* 156, 2024 (2019).
2. Hanna-Sawires RG, Schiphuis JH, Wuhler M, et al.: *Int J Mol Sci* 22, 2655 (2021).
3. Coleman O, Henry M, O'Neill F, et al.: *Pancreas*, 49, 1109 (2020).
4. Kang Y, Zhang R, Suzuki R, et al.: *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 95, 207 (2015).
5. <https://netrf.org/for-researchers/cell-line-initiative/> (10-11-2021)
6. Lovitt CJ, Shelper TB, & Avery, VM.: *J Canc Res Clin Onco* 141, 951 (2015).
7. Lee JW, Komar CA, Bengsch F, et al.: *Current Protocols in Pharmacology* 73, 14. 39. 1 (2016).
8. Di Franco G, Usai A, Funel N, et al.: *World Journal of Gastroenterology* 26, 2792 (2020).
9. Schachtschneider KM, Schwind RM, Newson J, et al.: *Frontiers in Oncology*, 7, 190 (2017).
10. Bravo-Hernandez M, Tadokoro T, Navarro MR, et al.: *Nature medicine* 26(1), 118 (2020).
11. Takahashi K, & Yamanaka S. *Cell* 126, 663 (2006).
12. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al.: *Cell* 131, 861 (2007).
13. Kertys M, Grendar M, Horak V, et al.: *Melanoma Research*, 31, 140 (2021).
14. <https://hpscereg.eu/cell-line/ORIONi001-A> (16-11-2021).

Souhrn

Strnadel J. et al.: Projekt XenoPig – bunkové inženýrství a transplantační chirurgie v boji proti nádorům pankreatu

Pankreatický duktální adenokarcinom (PDAC) představuje jeden z nejagresivnějších typů lidských malignit. V současnosti je toto zhoubné onemocnění čtvrtou nejčastější příčinou úmrtí na rakovinu. Pětileté přežití pacientů s duktálním adenokarcinomem je méně než 8 %. Nové *in vitro* a *in vivo* modely jsou proto nutně potřebné pro vývoj nových terapií. S vlastní technologií pro derivaci nových, unikátních 3D nádorových buněčných linií izolovaných z lidských nádorů a ve spolupráci s Ústavem živočišné fyziologie a genetiky AV ČR v Liběchově představujeme plán vývoje velkého zvířecího modelu pro modelování lidského PDAC. S využitím tohoto modelu a nejmodernějších laboratorních technik provedeme profilovací analýzy (detekce a fenotypování cirkulujících rakovinných buněk, izolace a sekvenování cirkulující DNA, metabolické profilování a analýzu onkoproteinů, a detekce cytokinů pomocí multiplexních protilátkových čipů za účelem nalezení biomarkerů nádoru pankreatu. Nově vyvinutý model zároveň poskytneme pro potřeby výzkumu spolupracujícím vědeckým pracovištím a farmaceutickým společnostem.

Klíčové slova: duktální adenokarcinom pankreatu, 3D buňkové linie, xenotransplantace, imunosuprese, prasečí model.

Summary

Strnadel J. et al.: XenoPig project – cell engineering and transplant surgery in the fight against pancreatic tumors

Pancreatic ductal adenocarcinoma represents one of the most aggressive type of human malignancy. Currently, this malignancy is the fourth most frequent cause of death. 5-year survival of patients with ductal adenocarcinoma is less than 8 %. New *in vitro* and *in vivo* models are therefore desperately needed for new therapy development. With our own technology for derivation of new, unique 3D cancer cell lines from human tumors and in collaboration with Institute of Animal Physiology and Genetics, AS CR, in Libeň, we present here the plan for the development of large xenograft animal model (pig) bearing human pancreatic tumor. With the use of this model and state-of-the-art lab. techniques, we will perform multiple profiling analyses (circulating cancer cell detection and phenotyping, circulating DNA isolation and sequencing, metabolomic profiling and cancer-related proteins and cytokines detection with multiplex antibody array chips in order to find the hallmarks of pancreatic tumor).

Keywords: pancreatic ductal adenocarcinoma, 3D cell lines, xenografting, immunosuppression, pig animal model.

SENZORICKY AKTIVNÍ LÁTKY A LEGISLATIVA OVOCNÝCH DESTILÁTŮ

Josef Balák

Ústav Biotechnologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze; balakj@vscht.cz

Úvod

Výroba ovocných destilátů, nebo také ovocných pálenek, a konzumace má dlouhou tradici v zemích celého světa¹. Existuje velké množství druhů ovocných destilátů vyráběných z různých surovin a lišících se postupem výroby, kdy společnými znaky všech ovocných destilátů jsou přeměna kvasitelných cukrů obsažených v surovině na ethanol činností mikroorganismů a následná destilace tohoto kvasu². V právních řádech různých států jsou implementovány předpisy stanovující poža-

davky na kvalitu a technologii výroby jednotlivých druhů ovocných destilátů³. Destiláty bývají nejčastěji vyráběny ze surovin, které jsou v jednotlivých lokalitách snadno přístupné. Nejznámější jsou destiláty ze švestek, meruněk, jablek, hrušek a vinných hroznů (koňak, brandy, pisco), ale k jejich výrobě může být použito jakékoliv ovoce s dostatečně vysokým obsahem kvasitelných cukrů. Technologii destilace znaly již starověké civilizace a prošla v průběhu času dlouhým vývojem.

Ovocné destiláty obsahují kromě ethanolu široké spektrum dalších chemických sloučenin, jejichž kon-

centrace, atributy vůně a prahové hodnoty vnímání jsou důležité pro kvalitu a typičnost destilátu. Složení ovocných destilátů může být ovlivněno mnoha faktory, především výběrem vhodných a kvalitních surovin, podmínkami fermentace, způsobem provedení destilace a dobou a podmínkami, při kterých destilát před uvedením na trh zraje². Konkurenční boj o zákazníky vede producenty destilátů ke snaze vyrobit destilát s co nejlepšími organoleptickými vlastnostmi. Nenahraditelným nástrojem k určení organoleptických vlastností destilátů je senzorická analýza, která je však poměrně náročná na provedení a nepřináší vždy jednoznačné výsledky. Chemické složení ovocných destilátů bývá obvykle sledováno pomocí plynové chromatografie^{4,5}. Při dobré znalosti souvislostí organoleptických vlastností a analytických profilů destilátů je možné ve výrobní praxi provádět průběžnou kontrolu kvality produkovaných destilátů pomocí chemické analýzy, jejíž provedení je rychlejší a přináší přesné výsledky.

Ovocné destiláty z pohledu právního

Vzhledem k tomu, že ovocné destiláty jsou potravinou určené k lidské spotřebě, je jejich produkce podřízena legislativě a podléhá kontrolám. V České Republice stanovuje požadavky na výrobu, distribuci, prodej a kvalitu potravin zákon 110/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích, který zpracovává příslušné předpisy EU. Sledováním jakosti a kvality potravin se zabývá dle tohoto zákona Česká zemědělská a potravinářská inspekce, Státní veterinární správa a Krajská hygienická stanice⁶. Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 335/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích je prováděcí vyhláškou k zákonu o potravinách a tabákových výrobcích č. 110/1997 Sb. a věnuje se zejména kategorizaci jednotlivých druhů lihovin a jejich charakterizaci⁷.

Podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 787/2019 ze dne 17. dubna 2019 se ovocné destiláty řadí mezi lihoviny. Toto nařízení definuje lihoviny jako alkoholické nápoje o určitých organoleptických vlastnostech, které jsou určeny k lidské spotřebě a obsahují minimálně 15 % ethanolu. Lihoviny mohou být vyráběny buď kvasným pochodem a následnou destilací vzniklého kvasu, nebo takzvaně studenou cestou, čili mícháním lihu nebo destilátu zemědělského původu s dalšími přísadami (jako například s vodou, cukrem, sladidly, aromatizujícími látkami či jinými lihovinami), nebo macerací částí rostlin v lihu či destilátu zemědělského původu. Toto nařízení klasifikuje a stanovuje požadavky na jednotlivé kategorie lihovin, jimiž jsou například ovocné destiláty, pálenky získané macerací a destilací, rumy, whiskey či whisky, vinné destiláty, brandy, giny, likéry, vodky, aromatizované vodky a podobně³.

Ovocné destiláty jsou dle této vyhlášky kategorií lihovin obsahující minimálně 37,5 % (obj.) a jejich destilace je vedena do obsahu alkoholu nižšího než 86 % (obj.). Do ovocných destilátů nesmí být přidán žádný další ethanol ani destilát zemědělského původu. Ovocné destiláty obsahují minimálně 200 g těkavých látek na hektolitr čistého ethanolu. Přídavek aromatizujících látek není povolený. Legislativou je vymezován i obsah

některých pro lidský organismus toxických látek, které by se potenciálně v destilátu mohly v nežádoucích koncentracích vyskytnout. Destiláty vyráběné z nevypeckovaného ovoce smí mít obsah kyseliny kyanovodíkové nejvýše 7 g připadajících na hektolitr čistého ethanolu. Obsah methanolu je regulován na nejvýše 12 g methanolu na litr čistého ethanolu pro pálenky vyrobené ze švestek, sliv, mirabelek, hrušek, jablek, ostružin, malin, meruněk nebo broskví, dále na maximálně 13,5 g methanolu na litr čistého ethanolu pro pálenky vyrobené z hrušek odrůdy *Williams*, černého a červeného rybízu, bezinek, jeřabin, kdoulí či bobulí jalovce a na maximálních 10 g methanolu na litr stoprocentního lihu pro pálenky vyrobené z ostatního ovoce³. Ovocné destiláty mohou obsahovat pro lidský organismus potenciálně mutagenní ethylkarbamát. Jeho obsah je v ovocných destilátech regulován Doporučením Komise (EU) 22/2016 ze dne 7. ledna 2016 o prevenci a snížení kontaminace lihovin z peckovin a lihovin z výlisků peckovin ethylkarbamátem a o zrušení doporučení 2010/133/EU, které uvádí doporučenou nejvyšší koncentraci ethylkarbamátu 1 mg/l, ale tuto hodnotu lze aktualizovat s ohledem na získané zkušenosti. Prodej ovocných destilátů s vyšším obsahem ethylkarbamátu tak není v souladu s příslušným doporučením, není však protiprávní⁸.

Ovocné destiláty obsahují ethanol, a vztahují se tak na ně předpisy týkající se lihu. Zákon č. 61/1997 Sb. o lihu vymezuje podmínky pro výrobu, úpravu, skladování, evidenci a oběh lihu, popisuje postupy zajišťující daňové příjmy státního rozpočtu⁹. Lih je jedním z výrobků zatížených spotřební daní. Zákon o spotřební dani č. 353/2003 Sb. stanovuje náležitosti nutné k evidenci lihu a odvádění příslušných daní. Zákon se mimo jiné zabývá pojmem daňový sklad, což je prostor, do kterého musí být uložen veškerý vyprodukovaný lih, ze kterého ještě nebyla odvedena spotřební daň¹⁰. Dle Zákona č. 364/2019 Sb., kterým se mění některé zákony v oblasti daní v souvislosti se zvyšováním příjmů veřejných rozpočtů, je od 1. 1. 2020 v České republice spotřební daň na hektolitr lihu 32 250 Kč¹¹. Zákon 676/2004 Sb., který zavádí povinné značení lihu, napomáhá dohlížet na výběr spotřební daně a zamezuje distribuci nezdaněných lihovin a lihovin nevyhovujících předepsaným normám¹². Vyhláška Ministerstva financí č. 140/1997 Sb., o kontrole výroby a oběhu lihu je prováděcím předpisem k Zákonu o lihu a tedy stanovuje praktické postupy, výpočty, vzory evidencí lihu a podobně¹³. Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 141/1997 Sb., o technických požadavcích na výrobu, skladování, a zpracování lihu je dalším prováděcím předpisem k zákonu o lihu. Tato vyhláška stanovuje technické požadavky na výrobní zařízení jako je jeho uspořádání či použité materiály. Dále popisuje metody použitelné pro stanovení koncentrace lihu, použitelná činidla k denaturaci lihu či normy ztrát lihu při stáčení, skladování a dopravě¹⁴.

Sloučeniny ovocných destilátů, jejich původ a organoleptické vlastnosti

Konečné složení hotového ovocného destilátu je výsledkem působení mnoha faktorů během výrobního

procesu. Na spektrum senzoricky aktivních látek má vliv složení použitého ovoce, fermentace, průběh destilace i zrání a stažení destilátu².

Kvalitu destilátu ovlivňuje v první řadě odrůda ovoce, stupeň jeho zralosti a spektrum mikroorganismů, které se vyskytují na povrchu ovoce a stojí následně za fermentačními procesy^{2,15,16}. Dezintegrace ovoce před kvašením by měla být prováděna tak, aby byly sacharidové složky dužiny co nejpřístupnější pro fermentující mikroorganismy, a současně ale nedocházelo k porušení jader, což by mohlo vést k nadměrnému uvolňování některých senzoricky aktivních látek (benzaldehydu) do kvasu a k vývoji toxických látek (ethylkarbamátu)^{17,18}. Dalším faktorem ovlivňujícím složení ovocného destilátu je způsob provedení destilace, a to jak z pohledu použitého vybavení (vsádková destilace v alembiku/kolonová destilace), tak i z pohledu vedení destilace (intenzita ohřevu, intenzita míchání, míra deflegmace, časový úsek jímání prokapu a podobně)^{19,20}. Výsledkem destilace je bohatá směs těkavých látek, která není v chemické rovnováze a během následného zrání lihoviny tak dochází k dalším pomalým spontánním chemickým dějům směřujícím k této rovnováze^{2,21}.

Majoritními skupinami sloučenin ovocných destilátů jsou alkoholy, estery, karbonylové sloučeniny, organické kyseliny a dále také terpenoidy, acetaldehyd a různé další organické sloučeniny. Nejhojnějšími alkoholy v ovocných destilátech jsou ethanol, hlavní produkt anaerobní alkoholové fermentace kvasinek, a methanol uvolňovaný enzymatickou degradací pektinu z ovoce^{2,22}. Kvantitativně nejzastoupenější skupinou složek ovocných destilátů jsou vyšší alkoholy zvané též fúzlové alkoholy, které jsou vedlejšími produkty kvasinkového metabolismu aminokyselin²⁰. Mezi fúzlové alkoholy přítomné v ovocných destilátech se řadí zejména isoamylalkohol (3-methylbutanol) mající původ v leucinu, 2-methylbutanol (opticky aktivní isoamylalkohol) pocházející z isoleucinu, 2-methylpropanol (isobutylalkohol) pocházející z valinu, 2-fenylethanol vzniklý z fenylalaninu, *p*-hydroxyfenylethanol vznikající z tyrosinu a také 1-propanol. Pojem fúzlové aroma má svůj původ v německém slově „der Fusel“ označujícím nekvalitní alkoholické nápoje odpovídá alkoholové a připálené vůni. Výjimku tvoří 2-fenylethanol s vůní květinovou. Tyto sloučeniny mají v lihu poměrně vysoké prahové koncentrace vnímání a při nižších koncentracích pomáhají utvářet ovocný charakter vůně a chuti. Při zvýšených koncentracích jsou příčinou nežádoucích dráždivých a fúzlových vůní a chutí destilátů². Zastoupení těchto alkoholů je v destilátech různorodé a závisí na druhu a odrůdě kvašeného ovoce, na spektru fermentujících mikroorganismů a provedení destilace^{23,24}. Některé další alkoholy vyskytující se v destilátech, například 1-butanol a 1-hexanol, nejsou produktem metabolismu aminokyselin, ale mají svůj původ v surovině²⁵, jsou produkovány během fermentace^{16,20} a nebo vznikají termicky katalyzovanými reakcemi během destilace¹⁹.

Majoritní složkou karbonylové frakce destilátů je acetaldehyd s ostrou a dráždivou vůní, který vzniká degradací pyruvátu a je intermediátem dráhy vedoucí ke vzniku ethanolu. V ovocných destilátech má vysokou

prahovou hodnotu vnímání a významně neovlivňuje jejich kvalitu. Acetaldehyd je vysoce těkavou látkou a jeho velký podíl je oddělen v úkapu. V prostředí bohatém na ethanol dochází z acetaldehydu k pozvolné tvorbě 1,1-diethoxyethanolu, což má za následek postupnou redukci možného dráždivého vlivu způsobeného acetaldehydem^{2,17}. Některé vyšší aldehydy jako například nonanal, který je nositelem ovocné vůně, pocházejí z použitého ovoce a podílejí se tak na charakteristické ovocné vůni destilátu²⁵. Významným aldehydem nacházejícím se zejména v destilátech z peckového ovoce je benzaldehyd, který se vyznačuje mandlovou vůní. Vzniká rozkladem amygdalinu, pocházejícího z jader, během fermentace působením β -glukosidas. Benzaldehyd dodává destilátu charakteristickou vůni pecek^{6,17}. Další karbonylovou sloučeninou je diacetyl, který je formován především bakteriemi mléčného kvašení a částečně též kvasinkami. Ten je ve vyšších koncentracích příčinou nežádoucí máslové vůně a chuti²⁷.

Organické karboxylové kyseliny jsou ve fermentovaných nápojích přítomny v důsledku jejich uvolňování do média z kvasinek v souvislosti s formováním jejich plasmatické membrány. Kvasinky tvoří zejména vyšší mastné kyseliny se sudým počtem uhlíků, nenasycené mastné kyseliny jsou pak tvořeny v závislosti na kultivačních podmínkách. Mastné kyseliny mají tukové, voskové a mýdlové aroma. Obsah mastných kyselin je v destilovaných nápojích redukován jejich oddělením v dokapu během destilace a také jejich spontánní esterifikací s ethanolem během fermentace a zrání destilátu^{2,16,28,29}. Kyselina octová je běžným produktem kvašení, avšak při vysokých koncentracích způsobuje nežádoucí octovou vůni a chuť³⁰.

Velmi významnou skupinou látek ovocných destilátů jsou ze senzorického hlediska estery. Mají obecně žádoucí organoleptické vlastnosti a významně přispívají k vůni destilátů, protože jejich koncentrace v nich často převyšuje prahové hodnoty vnímání. Estery mají v destilátech původ v použitém ovoci a zároveň mohou vznikat esterifikací různých alkoholů a organických kyselin během fermentace a zrání destilátů. Příklady významných esterů přítomných v ovocných destilovaných nápojích mohou být ethyl 2-methylbutanoát, ethyl hexanoát, ethyl oktanoát, ethyl acetát, isoamyl acetát, isobutyl acetát, hexyl acetát či 2-fenylethyl acetát^{2,17,31,32,33}. Ethyl acetát může při koncentracích vyšších než 4 mg na 1 ml čistého ethanolu přispívat k nežádoucím pachům připomínajícím ředidla a laky^{2,17}. Ethyl estery vyšších mastných kyselin jsou nositeli voskových a tukových vůní a jejich velký podíl je oddělen v dokapu během destilace^{2,20}.

Některé terpenové uhlovodíky a jejich deriváty, hlavně alkoholy, přítomné v destilátech mají svůj původ hlavně v ovoci, jsou nositeli různých květinových, ovocných a pryskyřičných vůní a kladným způsobem tak mohou ovlivňovat organoleptické vlastnosti destilátů^{2,15}. Kvasinky jsou schopné metabolizovat terpenoidy z použité suroviny a převádět je na terpenoidy jiné (například přeměna geraniolu na nerol, citronellol, linalool či terpineol). Popsána byla i *de novo* syntéza některých terpenoidů kvasinkami, například geraniolu, nerolu, citronellolu, linaloolu, terpineolu či nerolidolu³⁴.

Závěr

Ovocné destiláty obsahují široké spektrum sloučenin obsažených v různých koncentracích. Organoleptické vlastnosti ovocných destilátů jsou závislé na koncentraci jednotlivých složek, prahových koncentracích sensorického vnímání a charakteru vůně přinášené jednotlivými složkami. Některé sloučeniny mají vysokou sensorickou aktivitu a mohou pozitivním či negativním způsobem ovlivnit vlastnosti destilátu i při malých koncentracích. Různé látky přítomné v hotovém nápoji mohou mít svůj původ v různých fázích výroby a pro

dosažení kvalitního nápoje je potřeba pečlivě kontrolovat celý výrobní proces. Kritickým je pro kvalitu destilátů zejména kvasný proces, během kterého je produkována většina těkavých látek přítomných v hotovém nápoji. Možné defekty v kvasu, například zvýšená metabolická aktivita nežádoucích mikroorganismů, tak mohou vést k produkci látek snižujících kvalitu výsledného destilátu. Chemická analýza ovocných destilátů, například pomocí plynové chromatografie, může sloužit k objektivní kontrole jejich kvality.

Literatura:

1. Melzoch K: *Multioborový seminář probíhající 22. – 29. října 2005 v Praze*, 97 (2005).
2. Christoph N and Bauer-Christoph C (2007). *Flavours and Fragrances*, edited by R. Berger, pp. 219. Berlin: Springer.
3. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2019/787 o definici, popisu, obchodní úpravě a označování lihovin, používání názvů lihovin v obchodní úpravě a při označování jiných potravin, ochraně zeměpisných označení lihovin, používání lihu a destilátů zemědělského původu při výrobě alkoholických nápojů a o zrušení nařízení (ES) č. 110/2008, pp. 1.
4. Balcerek M, Pielech-Przybylska K, et al.: *Journal of the Institute of Brewing* 123(3), 452 (2017).
5. Satora P, Kostrz M, et al.: *European Food Research Technology* 243(3), 489 (2017).
6. Zákon č. 110/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích.
7. Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 335/1997 Sb. kterou se provádí § 18 písm. a), d), h), i), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro nealkoholické nápoje a koncentráty k přípravě nealkoholických nápojů, ovocná vína, ostatní vína a medovinu, pivo, konzumní líh, lihoviny a ostatní alkoholické nápoje, kvasný ocet a droždí: Ministerstvo zemědělství.
8. Doporučení Komise (EU) 2016/22 ze dne 7. ledna 2016 o prevenci a snížení kontaminace lihovin z peckovin a lihovin z výlisků peckovin ethylkarbamátem a o zrušení doporučení 2010/133/EU.
9. Zákon č. 61/1997 Sb. o lihu a o změně a doplnění zákona č. 455/1991 Sb., o živnostenském podnikání (živnostenský zákon), ve znění pozdějších předpisů, a zákona České národní rady č. 587/1992 Sb., o spotřebních daních, ve znění pozdějších předpisů, (zákon o lihu), pp. 1610.
10. Zákon č. 353/2003 Sb. o spotřebních daních.
11. Zákon č. 364/2019 Sb., kterým se mění některé zákony v oblasti daní v souvislosti se zvyšováním příjmů veřejných rozpočtů.
12. Zákon č. 676/2004 Sb. o povinném značení lihu a o změně zákona č. 586/1992 Sb., o daních z příjmů, ve znění pozdějších předpisů, pp. 12182.
13. Vyhláška Ministerstva financí č. 140/1997 Sb. o kontrole výroby a oběhu lihu a o provedení dalších ustanovení zákona o lihu s tím souvisejících.
14. Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 141/1997 Sb. o technických požadavcích na výrobu, skladování a zpracování lihu.
15. Ismail HM, Williams AA, et al.: *Journal of the Science of Food Agriculture* 32(5), 498 (1981).
16. Torija MJ, Beltran G, et al.: *International Journal of Food Microbiology* 85(1-2), 127 (2003).
17. Popović B, Gavrilović-Damnjanović J, et al.: *I Balkan Symposium on Fruit Growing* 1, 575 (2007).
18. Zhao X, Du G, et al.: *Trends in Food Science Technology* 32(2), 97 (2013).
19. Léauté R: *American Journal of Enology and Viticulture* 41(1), 90 (1990).
20. Spaho N, Dürr P, et al.: *Journal of the Institute of Brewing* 119(1-2), 48 (2013).
21. Miličević B, Lukić I, et al.: *Technologica Acta* 5(1), 42 (2012).
22. Satora P and Tuszyński T: *Food microbiology* 27(3), 418 (2010).
23. Hazelwood LA, Daran J-M, et al.: *Applied Environmental Microbiology* 74(8), 2259 (2008).
24. Eden A, Van Nederveelde L, et al.: *Applied Microbiology and Biotechnology* 55(3), 296 (2001).
25. Pino JA and Quijano CE: *Food Science Technology* 32(1), 76 (2012).
26. Haisman DR and Knight DJ: *International Journal of Food Science Technology* 2(3), 241 (1967).
27. Bartowsky EJ and Henschke PA: *International Journal of Food Microbiology* 96(3), 235 (2004).
28. Moss CW, Shinoda T, et al.: *Journal of Clinical Microbiology* 16(6), 1073 (1982).
29. Suomalainen H: *Journal of the Institute of Brewing* 87(5), 296 (1981).
30. Ghommidh C, Navarro J, et al.: *Biotechnology and Bioengineering* 24(3), 605 (1982).
31. Hu K, Jin G-J, et al.: *Food Chemistry* 239(1), 495 (2018).
32. Velišek J, Pudil F, et al.: *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 174(6), 463 (1982).
33. Filajdić M and Djuković J: *Journal of the Science of Food Agriculture* 24(7), 835 (1973).
34. Carrau FM, Medina K, et al.: *FEMS Microbiology Letters* 243(1), 107 (2005).

Souhrn

Balák J.: Senzoricky aktivní látky a legislativa ovocných destilátů

Ovocné destiláty jsou alkoholické nápoje s dlouhou tradicí výroby i konzumace po celém světě. Společnými kroky výroby všech druhů ovocných destilátů jsou příprava ovocného kvasu a jeho následná destilace. Způsobem provedení výroby ovocných destilátů je možné ovlivnit jejich složení a organoleptické vlastnosti. Tento článek představuje náhled do problematiky vlivu výrobní technologie na analytický profil ovocných destilátů a do souvislostí mezi složením destilátů a jejich organoleptickými vlastnostmi. Popsán je zde také právní rámec výroby a distribuce ovocných destilátů.

Klíčová slova: ovocný destilát, pálenka, složení, těkavé látky, organoleptické vlastnosti, výrobní technologie

Summary

Balák J.: Sensorically active compounds and legislation of fruit distillates

Fruit spirits are alcoholic beverages and their production and consumption has a long tradition all around the world. Common steps in production of all kinds of fruit spirits are fermentation and distillation of fermented mash. The manner in which the production process is carried out can affect the composition and organoleptic properties of fruit spirits. This article is a swift preview of problematics of relations between production technology of fruit spirits, their composition and organoleptic properties. It also describes legislation of production and distribution of fruit distillates.

Keywords: fruit distillate, fruit spirit, composition, volatile compounds, organoleptic properties, production technology

MOŘSKÝ BIOFOULING A ANTIFOULINGOVÉ TECHNOLOGIE

Markéta Kulišová

Ústav biotechnologie, VŠCHT Praha, kulisovm@vscht.cz

Úvod

Mořský biofouling je charakterizován tvorbou mikrobiálního biofilmu na ponořených površích, na který následně snadno adherují rozmanité makroorganismy. Tato kolonizace povrchů lodí a dalších ponořených zařízení negativně ekonomicky ovlivňuje provoz lodí, ale má i ekologická a bezpečnostní rizika. Biofouling přispívá ke zvyšování odporu lodí, což ústí ve vyšší spotřebu paliva a v důsledku toho zvýšení emisí skleníkových plynů. Díky těmto a řadě dalších komplikací spojených s biofoulingem je nutné hledat účinné antifoulingové mechanismy. V minulosti využívané antifoulingové strategie byly shledány toxickými pro životní prostředí, a tudíž je dnešní výzkum soustředěn na ekologické, širokospektrální a dlouhodobé technologie.

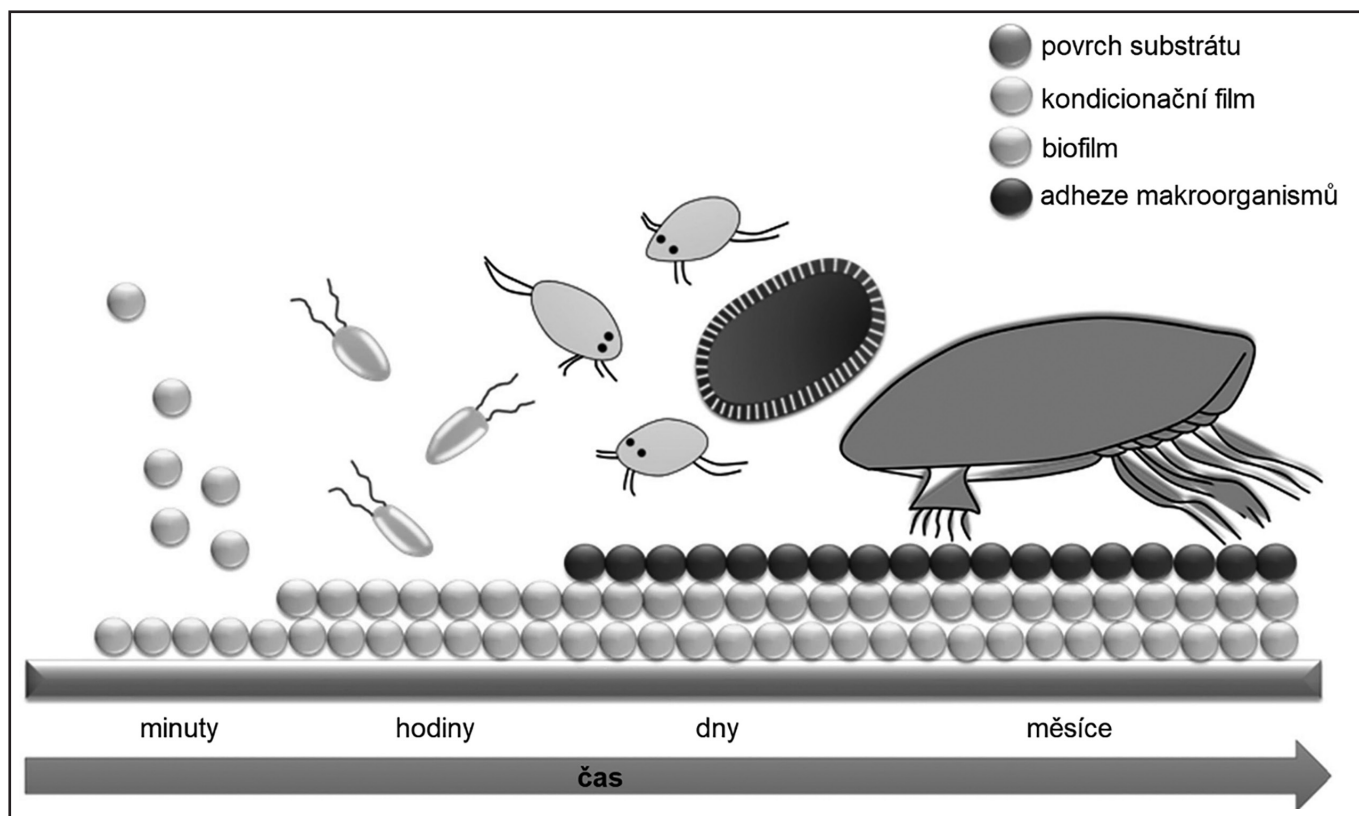
Biofouling

Biofouling je termín popisující nežádoucí akumulaci celé řady organismů na ponořené povrchy jako jsou trupy lodí, plovoucí plošiny, potrubí a řada dalších. Vzhledem k tomu, že k biofoulingu dochází téměř kdekoliv, kde je přítomna voda, představuje tento proces riziko pro širokou škálu průmyslových odvětví, jako je zpracování potravin, výroba papíru či odsolovací zařízení¹. Co se týče mořského biofoulingu, všechna plavidla a mořská zařízení vykazují určitý stupeň biofoulingu, již během několika minut po ponoření čistého povrchu do mořské vody.

Celosvětově existuje více než 4000 druhů organismů podílejících se na mořském biofoulingu, z nichž většina žije především v mělkých vodách podél pobřeží a v přístavech. Tyto organismy mohou být rozděleny do dvou kategorií. První z nich zahrnuje bakterie a rozsivky, které se podílí na tzv. mikrofoulingu. Druhá kategorie zahrnuje makrofoulingové druhy, jako jsou řasy, svíjonožci, slávky, mnohoštětinatci a další². Proces biofoulingu (Obr. 1) začíná vytvořením vrstvy kondicionálního filmu na povrchu substrátu. Tento film je složený

z organických materiálů, jako jsou bílkoviny, polysacharidy a proteoglykany. Jeho vznik probíhá jednoduchou fyzikální interakcí za velmi krátkou dobu (1 minuta) a poskytuje lepkavější povrch pro následné přilnutí dalších organismů³. Biofilm se následně vyvíjí další adhezí bakterií a mikrořas k jeho stávajícímu povrchu. Kolonizace mikroorganismy zahrnuje dva odlišné kroky – reverzibilní adsorpci a nevratnou adhezi. První jmenovaná se řídí hlavně fyzikálními efekty, jako je Brownův pohyb, van der Waalovy síly, elektrostatické interakce, gravitace a tok vody⁴. K nevratné adhezi dochází především prostřednictvím biochemických zákonitostí, jako je sekrece extracelulárních polymerních látek (EPS). Během tvorby biofilmu v mořském prostředí jsou nejvíce zastoupenými mikroorganismy rozsivky. Po vzniku a vývoji biofilmu se na jeho povrch přichytí larvy či spory makrofoulingových mikroorganismů. O dva až tři týdny později se z těchto organismů vyvine komplexní biologická komunita⁴. Při pokusech sledujících ponoření čistého materiálu do moře obvykle dochází k adhezii makroorganismů až po tvorbě mikrobiálního biofilmu⁵. Není tomu tak však vždy, například larvy některých druhů mechovců⁶, mnohoštětinatců⁷ a dalších biofoulingových organismů mohou adherovat k povrchům již před vznikem biofilmu⁸.

Proces biofoulingu probíhá jak fyzikálními, tak biochemickými reakcemi. Fyzikální reakce jsou řízeny faktory jako elektrostatické interakce a tok vody, a vedou k tvorbě kondicionálního biofilmu a adsorpci mikroorganismů. Mezi biochemické reakce patří sekrece EPS, pohyb a sekundární adheze mikroorganismů, zrání biofilmu a adheze makrofoulingových organismů. Zatímco fyzikální reakce jsou obvykle reverzibilní, reakce biochemické jsou nevratné. Z tohoto faktu lze odvodit, že by bylo snazší zabránit biofoulingu během reakcí fyzikálních než biochemických. Úspěšná inhibice fyzikálních reakcí by omezila pozdější vznik reakcí biochemických⁹.



Obr. 1. Schematické zobrazení mořského biofoulingu (Tian a kol., 2021, upraveno)

Adheze bakterií

Bakteriální adheze nastává v důsledku interakce planktonních buněk s povrchem pomocí fyzikálních reakcí (elektrostatické interakce¹⁰, gravitace a proudění vody¹¹). Po počáteční reverzibilní adsorpci používají bakterie produkci extracelulárních polymerů k dočasnému přilnutí k povrchu. Tyto polymery jsou složeny zejména z polysacharidů na bázi glukosy a fruktosy⁹. Biofilm je tvořen při vylučování většího množství EPS. Je to vysoce organizované společenství tvořené obvykle řadou mikroorganismů, jehož vznik je pro zahrnuté mikroorganismy vysoce prospěšný¹². Po dozrání biofilmu dispergují buňky do vody, čímž je zprostředkováno šíření těchto mikrobiálních druhů do okolí. Předpokladem fenotypové změny mezi reverzibilními a ireverzibilními stavy je systém quorum sensing. Tento systém je založený na buněčné hustotě – bakteriální buňka je schopna vycítit, že je součástí koncentrace buněk určité velikosti (the quorum) rozpoznáním specifických nízkomolekulárních signálních sloučenin vylučovaných a akumulovaných buňkami. Quorum sensing je důležitý systém pro mnoho aspektů přežití buněk¹³. Obecně řečeno, hmotnost buněk v biofilmech tvoří pouze 2 – 5 % z celkové hmotnosti, přičemž zbytek tvoří matrice EPS, která zahrnuje řadu extracelulárních sacharidů, proteinů, nukleových kyselin, glykoproteinů, fosfolipidů a dalších látek. Poměr zastoupení různých extracelulárních sloučenin vylučovaných různými druhy je zcela odlišný. Dokonce i stejný mikrobiální druh může vylučovat různé sloučeniny EPS za různých podmínek¹⁴. Mezi těmito sloučeninami jsou zejména polysacharidy vysoce heterogenní a obsahují různé druhy monosacharidových jednotek a anorganických materiálů. Sekretova-

né proteiny, které zahrnují řadu enzymů degradujících polymery, mají také heterogenní složení¹⁵. Tyto faktory ilustrují nedostatek společných rysů mezi biofilmy různých bakteriálních druhů, což činí širokospektrální antifouling velmi obtížnou záležitostí.

Adheze mikrořas

Hlavními eukaryotickými mořskými mikroorganismy jsou rozsivky, houby a prvoci, z nichž dominantními jsou rozsivky⁵. Adheze rozsivek je komplikovanějším procesem než u bakterií. Většinu rozsivek chybí bičíky, tudíž se nemohou aktivně přiblížit k danému povrchu, ale pouze pasivně přistát na povrchu pomocí gravitace či vodních proudů¹⁶. Poté, co rozsivky přistanou na povrchu, začnou aktivně sekretovat EPS pro primární reverzibilní adhezi. Následně se samy přeorientují a pohybují se po povrchu do pro ně ideální pozice. Tento pohyb se nazývá jako tzv. klouzání rozsivek. Obecně se předpokládá, že klouzání rozsivek je výsledkem aktivity aktin-myosinového pohybového systému zprostředkovaného extracelulárními proteoglykany¹⁷. Po nalezení ideální pozice rozsivky adherují k povrchu ireverzibilně a začnou vylučovat velké množství EPS¹⁸. EPS rozsivek je složeno z karboxylovaných nebo sulfátových kyselých polysacharidů, které se podílejí na klouzání těchto organismů a zesíťování matrice biofilmu¹⁹. Stejně jako u bakterií jsou EPS produkované různými druhy rozsivek různorodé a zahrnují různé proteinové frakce a komplexní polysacharidy s heterogenními kombinacemi monosacharidů¹⁸. Kromě toho lze u stejného druhu rozsivek detekovat alespoň dva různé druhy vylučovaných slizů²⁰. Na druhou stranu byly však zjištěny některé společné rysy rozsivek, jako jsou modulární

proteiny slizu a jejich supramolekulární uspořádání adhezivních nanovláken²¹. Tento společný rys by mohl být prvním impulzem hledání metodiky eliminace adheze rozsivek při biofoulingu.

Adheze makroorganismů

Nejvíce problematické efekty biofoulingu souvisí s kolonizací makroorganismů, jako jsou mechovci, měkkýši, mnohoštětinatci, pláštěnci, larvy svíjonožců a spory makrořas⁹. Osídlení povrchu makroorganismy nastává po vytvoření biofilmu bakteriemi, rozsivkami a dalšími mikroorganismy. Není však pravidlem, že by vzniklý biofilm usnadňoval adhezi všech makroorganismů. Předpokládá se, že kvůli kompetici o živiny a světlo mikroorganismy produkují metabolity, které mají za úkol odpuzovat specifické makroorganismy²². Mechanismy adheze jsou u konkrétních makroorganismů zcela odlišné. Dobře prozkoumanou problematikou je adheze makrořas rodu *Ulva*, které jsou velmi důležitými biofoulingovými činidly kvůli svému hojnému zastoupení v mořské vodě a schopnosti přizpůsobivosti různým životním prostředím⁹. Pohyblivé spory těchto makrořas mají čtyři bičíky a chybí jim polysacharidová buněčná stěna. Tyto spory obvykle přilnou k povrchům sekrecí glykoproteinu a poté zatáhnou bičíky a vytvoří buněčnou stěnu²³. Čerstvě uvolněný glykoprotein ze spor makrořas rodu *Ulva* má silnou adhezni schopnost a takto přichycené spory zpravidla není možné odstranit přirozeně silou vodního proudu při plutí většiny lodí²⁴. Proteinová adheziva řas, slávek a mnohoštětinatců mají několik společných rysů, včetně vysokého obsahu lysinu, glycinu a serinu a rozsáhlých polypeptidových repetitiv s postranními řetězci s obsahem dihydroxyfenylalaninu, které vytěsňují molekuly vody a usnadňují silnou adhezi²⁵.

Vliv biofoulingu

Soubor organismů, který roste na ponořených materiálech, se skládá ze stovek druhů, jako jsou bakterie, prvoci, řasy, měkkýši a další. Tyto organismy, které mohou tvořit hmotu o váze více než 150 kilogramů na jeden metr čtvereční, pevně přilnou na povrch, rychle rostou a mají velký potenciál reprodukce²⁶. V důsledku tohoto adhezivního procesu, urychluje biofouling korozi materiálů a způsobuje ztráty v provozní energetické účinnosti lodí. Koroze a podobná poškození postihují plavidla, ropné a plynové plošiny, výzkumná zařízení či zařízení spojená s akvakulturou (akvária, klece, potrubí, čerpadla)². Vliv biofoulingu lze rozdělit ze tří úhlů pohledu – toxicita antifoulingových nátěrů; vliv na účinnost lodí, provozní a ekonomické problémy při plavbě lodí; environmentální rizika.

1. toxicita antifoulingových nátěrů

Antifoulingové nátěry na bázi cínu, zinku a dalších sloučenin, představují velké riziko pro zachování mořských ekosystémů. Požíváním těchto typů nátěrů, které obsahují vysoce znečišťující biocidy jako je tributylcín, jsou ohroženy ústí řek, zálivy, otevřené moře, obchodní přístavy, oblasti lovu mořských plodů a rybolovu²⁷. Konkrétně sloučeniny tributylcínu se akumulují v mořských sedimentech a mohou se hromadit v tukových tkáních organismů²⁸.

2. účinnost lodí, provozní a ekonomické problémy při plavbě lodí

Pokud mají lodě na trupu biofoulingovou vrstvu, vytváří se tím vyšší odpor vody v důsledku tření mezi znečištěným trupem a vodou. Tento odpor snižuje rychlost lodí, zvyšuje spotřebu paliva a vyžaduje více zastávek na údržbu a čištění trupu. Rovněž se zvyšuje čas strávený v docích pro kompletní odstranění biofoulingové vrstvy, čímž narůstají provozní výdaje²⁹.

3. environmentální rizika

Vzhledem k současným rozměrům moderních lodí a velkému počtu plavidel plujících v oceánech, existuje důvod k obavám z biofoulingu a jeho vlivu na životní prostředí. Zvýšení spotřeby paliva v důsledku vyššího odporu vody způsobeného znečištěním trupu lodí vede k vážným environmentálním problémům, jako je zvýšení emisí skleníkových plynů (CO_2 , N_2O) do atmosféry, a z toho plynoucí navýšení úhrnů kyselých dešťů³⁰. Kyselé deště snižují pH oceánů a moří a výrazně ovlivňují mořský život. Biofouling spolu s balastní vodou je rovněž jedním z hlavních příčin zavlečení invazivních druhů do citlivých ekosystémů. Tento problém je ještě závažnější, pokud se jedná o zaoceánské lodě, které plují na velké vzdálenosti, a tedy propojují velmi odlišné ekosystémy. V důsledku tohoto transportu nežádoucích organismů na trupech lodí se původní druhy ocitají tisíce kilometrů od svého domácího prostředí. Příkladem může být invazivní druh měkkýše s českým názvem slávička mnohotvárná (*Dreissena polymorpha*), který pochází z moří severní Evropy. Přepřavou na obchodních lodích se dostal do oblasti Velkých jezer v Severní Americe, kde postupně ničí velkou část biodiverzity v jezerech a řekách³¹.

Antifoulingové technologie

Pro zamezení mikrobiální adheze na povrchy byla vyvinuta řada typů protektivních nátěrů. Předpokládá se, že většina antifoulingových nátěrů využívaných v minulosti pracovala na principu uvolnění biocidů či toxinů do prostředí ve snaze eliminace adheze mikroorganismů. Mezi dříve využívané biocidy patří oxid měďnatý, tributylcín, tributylcínoxid a organické biocidy (Irgarol 1050®, Sea Nine 211®, dichlofluanid, chlorothalonil, pyrrithion zinečnatý)³². Až do šedesátých let minulého století byly neúspěšnějšími antifoulingové nátěry založené na bázi alkylovaných cínů, zejména tributylcínu, který byl považován za téměř trvalé řešení problému mořského biofoulingu³³. U tributylcínu byly však objeveny jeho neurotoxické a genotoxické účinky na řadu mořských druhů, což vedlo od roku 2008 k jeho celosvětovému zákazu používání v antifoulingových nátěrech³⁴. Uvolňování i ostatních zmiňovaných látek z antifoulingových nátěrů může působit toxicky na celou řadu organismů včetně člověka³⁵. Pro zachování mořského prostředí je nezbytné vyvíjet netoxické antifoulingové technologie využívající ekologicky bezpečné produkty.

Mezi současné antifoulingové technologie patří především polymery odolné vůči proteinům, nátěry uvolňující antifoulingovou složku do prostředí, antifoulingové nátěry snižující adhezni sílu mezi organismy a substrátem, vodivé nátěry a systémy založené na fo-

todynamice. Aplikace polymerů odolných vůči proteinům patří mezi preventivní antifoulingovou technologii, protože tyto polymery mohou bránit adhezi proteinů a inhibovat vývoj biofoulingu na substrátu³⁶. U nátěrů uvolňujících antifoulingovou složku jsou využitelná zejména netoxická přírodní antifoulingová činidla či nízko toxický oxid měďnatý³⁷, které jsou připojeny na polymerní matrice a postupně se šíří v mořské vodě. Přírodní antifoulingové látky jsou považovány za ideální, pokud využívají extrakci účinných látek přímo z mořských mikroorganismů a vodních rostlin³⁸. Aktivita přírodních antifoulingových činidel má však vyšší nároky na stabilní mořské prostředí, což je velmi obtížné, jak při studiu těchto činidel, tak při potenciálním průmyslovém využití. Nátěry snižující adhezni sílu mezi biofoulingovými organismy a substrátem nepotřebují k dosažení svého účinku uvolnění antifoulingových látek do prostředí. Po minimalizaci adhezni síly na základě nízké povrchové volné energie stačí k účinnému odstranění organismů pouze hydrodynamické namáhání během plavby či jednoduché mechanické čištění³⁹. Mezi využívané nátěry fungující tímto principem patří nátěry na bázi křemíku (poly(dimethylsiloxan)), fluoru (poly(fluoroethylen)) a kombinované fluoro-křemičité materiály, které spojují nízké povrchové napětí křemičitých materiálů a tuhost fluorovaných sloučenin⁴⁰. Nátěry využívající grafen jsou rovněž slibnou strategií, protože povrchová energie materiálu a elektrostatické interakce mezi materiálem a bakteriemi jsou ovlivněny již v nanomolekulárním měřítku⁴¹. O praktické aplikaci antifoulingových vodivých nátěrů a fotodynamických systémů je doposud pouze velmi málo studií. Podle stávajících experimentů mají však tyto dvě metody vynikající antifoulingové účinky a jsou zároveň netoxické, citlivé k životnímu prostředí a nejsou ekonomicky náročné. Při jejich praktickém využití existuje však řada problémů. Vodivé systémy jsou omezeny pouze na malá plavidla a rozsah aplikací fotodynamických technologií má také své limity⁴².

Dalším možným přístupem pro vývoj antifoulingových systémů je využití biomimetiky. Prostřednictvím dlouhodobého pozorování mořských organismů bylo zjištěno, že i když jsou rostliny a živočichové dlouhodobě ponořeni v mořské vodě, jejich povrch je stále čistý. Většina sledovaných mořských organismů (vodní rostliny, žraloci, velryby, korály) odolávají biofoulingu sekrecí

hlenu či tvorbou speciálních struktur na svém povrchu. V hlenu mohou být zastoupeny účinné baktericidní látky. Na základě těchto skutečností se nynější výzkum zabývá extrakcí antifoulingových látek z mořských organismů a napodobováním jejich epidermálních struktur pro využití v boji s biofoulingem⁴³. Zajímavá zjištění poskytl studie zabývající se analýzou povrchu těl žraloků, velryb, delfínů a korálů. Analýzou SEM struktury žraločí kůže bylo zjištěno, že její povrch má strukturu plakoidních šupin, které mají lepší hydrofobicitu⁴⁴. Povrch kůže velryb je mikropórovitý a je pokryt vlastním slizem, který úspěšně blokuje adhezi mikroorganismů⁴⁵. U delfínů je kůže hladká se schopností produkce slizu, může snížit třecí odpor a tak inhibovat biofouling⁴⁶. Harmonickým pohybem chapadel korálů je také snižována adheze biofoulingových organismů⁴⁷. Tyto povrchové vlastnosti těl jmenovaných mořských živočichů byly využity při experimentální tvorbě nových antifoulingových nátěrů a všechny vykazovaly velmi dobré antifoulingové vlastnosti. V biomimetické technologii založené na studiu rostlinných struktur se využívá například lotosový list. Jeho povrch je složen z husté sítě drobných embosovaných bloků, které mají silné hydrofobní a samočistící vlastnosti⁴⁸. Pro širší využití biomimetiky v antifoulingu je však nutné zvýšit komplexnost daných poznatků a aplikovat je pro vývoj nových účinných materiálů.

Závěr

Vznik mořského biofoulingu je obecně charakterizován dvěma jevy, z čehož prvním je tvorba biofilmů, která zahrnuje reverzibilní adsorpci a nevratnou sekundární adhezi mikroorganismů. Druhým krokem je usazování a růst makroorganismů na tomto vzniklém biofilmu. Ve většině případů je pro makroorganismy snazší usadit se na specifických biofilmech než na hladkém povrchu. Biofouling jako takový způsobuje řadu komplikací pro lodní průmysl, včetně zvýšených provozních a ekonomických nákladů na provoz lodí. Další stinnou stránkou biofoulingu jsou environmentální rizika, která jsou spojena zejména s uvolňováním toxických látek z antifoulingových nátěrů do mořského prostředí. Z tohoto důvodu je nyní nutné aktivně hledat nové, ekologicky nezávadné alternativy antifoulingových technologií. Tyto přístupy jsou velmi rozmanité a pro jejich správnou aplikaci je nezbytné k této problematice přistupovat multidisciplinárně.

Literatura:

1. Ferreira-Vançato YC, Dantas FM, et al.: *Studies in Natural Products Chemistry* 67(463) (2020).
2. Yebra DM, Kiil S, et al.: *Progress in organic coatings* 50(2), 75 (2004).
3. Callow ME and Fletcher RL: *International biodeterioration & biodegradation* 34(3-4), 333 (1994).
4. Chambers LD, Stokes KR, et al.: *Surface and Coatings Technology* 201(6), 3642 (2006).
5. De Messano LV, Sathler L, et al.: *International Biodegradation & Biodegradation* 63(5), 607 (2009).
6. Maki J, Rittschof D, et al.: *The Biological Bulletin* 177(2), 295 (1989).
7. Lau SC, Harder T, et al.: *Biofueling* 19(3), 197 (2003).
8. Hung OS, Thiyagarajan V, et al.: *Marine Ecology Progress Series* 304(155) (2005).
9. Abarzua S and Jakubowski S: *Marine Ecology Progress Series* 123(301) (1995).
10. Fletcher M and Loeb G: *Applied and environmental microbiology* 37(1), 67 (1979).
11. Walt DR, Smulow JB, et al.: *Journal of colloid and interface science* 107(2), 334 (1985).
12. Flemming H-C, Griebe T, et al.: *Water Science and Technology* 34(5-6), 517 (1996).
13. Waters CM and Bassler BL: *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 21(319) (2005).
14. Lasa Uzcudun Í: *International Microbiology, 2006, 9 (1). Págs. 21-28 (2006).*

15. Kristensen JB, Meyer RL, et al.: *Biotechnology advances* 26(5), 471 (2008).
16. Krishnan S, Wang N, et al.: *Biomacromolecules* 7(5), 1449 (2006).
17. Poulsen NC, Spector I, et al.: *Cell motility and the cytoskeleton* 44(1), 23 (1999).
18. Chiovitti A, Dugdale TM, et al. (2006). *Biological adhesives*, pp. 79: Springer.
19. Lind JL, Heimann K, et al.: *Planta* 203(2), 213 (1997).
20. Higgins MJ, Crawford SA, et al.: *Protist* 153(1), 25 (2002).
21. Dugdale TM, Willis A, et al.: *Biophysical Journal* 90(8), L58 (2006).
22. Dobretsov S, Xiong H, et al.: *Marine biotechnology (New York, N.Y.)* 9(388) (2007).
23. Callow ME, Callow JA, et al.: *Journal of Phycology* 33(6), 938 (1997).
24. Finlay JA, Callow ME, et al.: *Biofouling* 18(4), 251 (2002).
25. Callow JA, Stanley MS, et al.: *Biofouling* 16(2-4), 141 (2000).
26. Vinagre PA, Simas T, et al.: *Journal of Marine Science and Engineering* 8(7), 495 (2020).
27. Almeida E, Diamantino TC, et al.: *Progress in Organic Coatings* 59(1), 2 (2007).
28. Takahashi S, Tanabe S, et al.: *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 37(1), 50 (1999).
29. Demirel YK, Turan O, et al.: *Applied Ocean Research* 62(100) (2017).
30. Shevkar M, Mishra A, et al.: *Research Journal of Pharmacy and Technology* 13(4517) (2020).
31. Herbert P, Li B, et al.: *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 46(1989).
32. Kyei SK, Darko G, et al.: *Journal of Coatings Technology and Research* 17(2), 315 (2020).
33. Evans SM, Leksono T, et al.: *Marine Pollution Bulletin* 30(1), 14 (1995).
34. Dafforn KA, Lewis JA, et al.: *Marine Pollution Bulletin* 62(3), 453 (2011).
35. Guardiola FA, Cuesta A, et al.: *Int J Mol Sci* 13(2), 1541 (2012).
36. Wörz A, Berchtold B, et al.: *Journal of Materials Chemistry* 22(37), 19547 (2012).
37. Omae I: *Chemical reviews* 103(9), 3431 (2003).
38. Fusetani N: *Natural product reports* 28(2), 400 (2011).
39. Ayyavoo J, Nguyen TPN, et al.: *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 506(190) (2016).
40. Nurioglu A, Esteves A, et al.: *J. Mater. Chem. B* 3(2015).
41. Parra C, Dorta F, et al.: *Journal of Nanobiotechnology* 13(1) (2015).
42. Tian L, Yin Y, et al.: *Journal of Bionic Engineering* 18(2), 239 (2021).
43. Yu HB and Li RF: *Surface Engineering* 32(2), 79 (2016).
44. Bixler GD and Bhushan B: *Soft matter* 8(44), 11271 (2012).
45. Baum C, Simon F, et al.: *Biofouling* 19(S1), 181 (2003).
46. Ralston E and Swain G: *Bioinspiration & biomimetics* 4(1), 015007 (2009).
47. Bing W, Tian L, et al.: *Advanced Materials Technologies* 4(2), 1800480 (2019).
48. Bai H, Zhang L, et al.: *Applied Surface Science* 459(54) (2018).

Souhrn

Kulišová M.: Mořský biofouling a antifoulingové technologie

Biofouling, jakožto postupná adheze mikro- a makroorganismů na ponořené povrchy způsobuje řadu problémů v lodním průmyslu, včetně zvýšené koroze materiálů, environmentálních rizik a dalších. Díky tomu je v dnešní době kladen důraz na vývoj nových, ekologicky bezpečných antifoulingových technologií, které by napomáhaly s prevencí vzniku biofoulingu či s jeho eliminací. Tyto technologie zahrnují využití polymerů odolných vůči proteinům, antifoulingových nátěrů s uvolňovanou složkou do prostředí či využití biomimetického přístupu.

Klíčová slova: mořský biofouling, biofilm, adheze, antifoulingové nátěry

Summary

Kulišová M.: Marine biofouling and antifouling technologies

Biofouling, as the gradual adhesion of micro- and macroorganisms to submerged surfaces, causes a number of problems in marine industry, including increased corrosion of materials, environmental risks and more. Due to this, emphasis is currently being placed on the development of new, ecologically safe antifouling technologies that would help prevent or eliminate biofouling. These technologies include the use of protein-resistant polymers, coatings that release the antifouling component into the environment or biomimetic approach.

Keywords: marine biofouling, biofilm, adhesion, antifouling coatings

LIDSKÁ STŘEVNÍ MIKROBIOTA

Thi Tra My Nguyenová

Ústav biotechnologie, VŠCHT Praha; nguyenoh@vscht.cz

Úvod

Albert Einstein kdysi řekl: „Skutečnou hodnotu lidské bytosti lze nalézt v míře, do níž dosáhl osvobození od sebe sama“. Po dlouhá léta byl pohled na „já“ omezen pouze na vlastní tělo složené z eukaryotních buněk kódovaných genomem. V současné éře omických technologií a systémové biologie je v novém pohledu zahrnuto také soužití s mikrobiálním společenstvem. Tyto prokaryotní buňky převyšují vlastní lidské buňky a obsahují nejméně desetkrát více DNA než lidský genom. Výměnou za potravu a přístřeší vykonávají mikrobiální komunity v hostiteli různé metabolické funkce. Každý jedinec vytváří spolu s mikroby ucelenou jednotku, a proto může být člověk chápán jako superorganismus¹.

Střevní mikrobiom (soubor všech mikroorganismů a jejich genů) je nedílnou součástí základních procesů, jako je normální fungování imunitního systému, produkce vitamínů, trávení, energetická homeostáza, integrita střevní bariéry či angiogeneze². Mikrobiom může být také považován jako potenciální zdroj nových terapeutik³.

První kolonizace

Mikrobiální kolonizace člověka započne ihned po narození. Složení střevní mikrobioty dítěte je závislé na způsobu porodu (vaginální porod, císařský řez), na krmení (mateřské mléko, umělá výživa), geografii a vystavení antibiotikům^{4,5}. Při porodu přirozenou cestou obsahuje mikrobiota nemluvnat rody *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Atopobium* nebo *Sneathia spp.*, zatímco při porodu císařským řezem je složení mikroflóry podobné kožní flóře matky (*Staphylococcus spp.*)⁶ a bývá méně různorodé⁷, proto mohou být tyto děti náchylnější k obezitě⁸ či na alergie a astma^{9,10}. Složení mikrobiomu se vyvíjí během prvních tří let života a zůstává až do dospělosti¹¹.

Střevní mikrobiota

Člověk je osídlen až bilionem (10^{12}) mikroorganismů souhrnně označovanými jako mikrobiota¹². Mnohdy se uvádí, že počet mikrobiálních buněk v lidském těle je až desetkrát větší, nedávno byl tento poměr přezkoumán pro bakteriální buňky na 1,3:1¹³. Na genetické úrovni je přibližně 99 % genů mikrobiálního původu (více než 10 mil genů)¹⁴.

Většinu lidské mikroflóry najdeme ve střevech, v tlustém střevě se pohybuje hustota mikrobiálních buněk kolem 10^{11} buněk/g obsahu, což odpovídá 1–2 kg tělesné hmotnosti¹⁵. Může se jednat o bakterie, kvasinky, houby, archaea či parazity (viry a prvoci). Nejlépe jsou charakterizovány bakterie^{16,17}, nejčastěji se vyskytují kmeny *Firmicutes*, *Bacteroidetes* a *Actinobacteria*, zatímco *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Cyanobacteria* a *Verrucomicrobia* jsou méně zastoupeny. Další důležitou složkou lidského mikrobiomu je také mykobiom

(fungální mikrobiom), patří sem například rody *Candida*, *Saccharomyces*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Malassezia*, *Cladosporium*, *Galactomyces*, *Pentatrichomonas*, *Entamoeba* a *Trichosporon*^{18–20}.

Lidská střevní mikroflóra se dá rozčlenit na prospěšné (esenciální) a oportunní bakterie. Mezi prospěšné bakterie lze zařadit rody *Lactobacteria* (*L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, atd.), *Bifidobacterium* (*B. bifidum*), *Enterococci*, *Propionobacteria* a *Peptostreptococci*, do zástupců oportunních bakterií patří *Bacilli*, *Clostridia*, *Enterobacteria* (kmen *Bacteriodes*), a *Peptococci*, *Staphylococci*, *Streptococci* (kmen *Actinobacteria*) nebo také kvasinky²¹. Nerovnováha mezi těmito skupinami bakterií způsobuje dysbiosu, která může vést ke gastrointestinálním poruchám, příkladem může být syndrom dráždivého tračníku, ulcerózní kolitida, Crohnova choroba, kolorektální karcinom a metabolické poruchy^{22,23}. Střevní bakterie mohou být též zapojeny do syntézy neuroaktivních molekul a metabolitů, které mohou modulovat patogenezí různých neurodegenerativních onemocnění^{24–26}.

Dysbiosu je převážně spojována se sníženým množstvím bakterií schopných produkovat mastné kyseliny s krátkým řetězcem (octová, propionová, máselná kyselina; SCFA). Pokles SCFA je asociován se zánětlivým prostředím a narušenou integritou střevního epitelu²⁷. Tyto kyseliny zasahují do genové exprese hostitele acetylací a methylací histonů, čímž ovlivňují buněčné a metabolické procesy²⁸.

Ačkoli bývá lidský mikrobiom víceméně stabilní, dieta s vysokým obsahem tuku, antibiotika nebo stres mohou změnit strukturu mikrobiálního společenstva^{29–31} (například snížením mikrobiální diverzity). Výzkumy ukazují, že kmeny *Bacteroidetes* a *Actinobacteria* pozitivně korelují s tukem a negativně s vlákninou ve stravě, zatímco pro kmeny *Firmicutes* a *Proteobacteria* to platilo naopak³². Na složení střevního mikrobiomu má nicméně vliv i genetika hostitele²⁹.

Metabolity mikrobiomu mohou měnit charakter například neurodegenerativních onemocnění, a to dvěma mechanismy, imunitně zprostředkovanou neurodegenerací, nebo přímým účinkem mikrobiálních metabolitů na buňky centrální nervové soustavy (CNS).

Gastrointestinální trakt představuje největší povrch lidského těla, střevní sliznice je vystavena obrovskému množství různých cizích antigenů pocházejících z mikroorganismů (komezálů i patogenů) anebo z potravy³³. Imunitní systém přímo ovlivňuje komezální mikrobiom a naopak. Regulační T-lymfocyt může být neuroprotektivní tím, že je schopen zvýšit remyelinizaci neuronů a diferenciaci oligodendrocytů³⁴.

Přímé účinky mikrobiálních metabolitů na CNS jsou v současné době málo pochopeny, i když je známo, že produkují neurotransmitery, jako jsou kyselina γ -aminomáselná, histamin, dopamin, noradrenalin, serotonin³⁵. Pravděpodobně produkují velké množství dalších

neuroaktivních látek, které mohou přímo interagovat s buňkami CNS³⁶.

V případě autoimunitních a zánětlivých onemocnění (diabetes 1. typu, artritida, idiopatické střevní záněty a astma) by se dala aplikovat léčba modulací mikrobiomu³⁷. Toho lze dosáhnout podáváním probiotik, prebiotik anebo kombinací obou, symbiotik^{38, 39}.

Studium osy mikrobiota-střevo-mozek

Osa mozek-střevo je obousměrným komunikačním kanál mezi „velkým“ mozkem v lebce a enterickou nervovou soustavou („malý mozek“) v břiše, který je propojený neurony sympatického a parasympatického nervového systému a cirkulujícími hormony či dalšími neuromodulačními molekulami⁴⁰. Tento koncept byl rozšířen o mikrobiotu (mikrobiota-střevo-mozek), poněvadž tyto střevní bakterie by mohly mít dopad na „velký mozek“. Mikrobiom by mohl sloužit jako potenciální diagnostický a terapeutický nástroj u různých poruch, jako je Parkinsonova a Alzheimerova choroba, amyotrofická laterální skleróza, autismus, mrtvice, deprese a drogová závislost⁴¹.

Ke studiu symbiotického vztahu mezi hostitelem a mikrobem se využívají například bezmikrobní zvířata (germ free, GF), která jsou cenným nástrojem pro pochopení vztahů mikrob-hostitel⁴². GF zvířata mají ve srovnání se zvířaty osídlenými komenzálními bakteriemi odlišný vývoj a fyziologii, dále mají menší tělesnou hmotnost, zhoršenou střevní funkci⁴³, narušený imunitní systém, dysregulovanou hormonální signalizaci nebo změněný metabolismus⁴⁴. Tyto experimenty prokázaly vliv mikrobiomu na morfologický a funkční vývoj různých částí mozku, které se projevují

změnou v chování⁴⁵. GF zvířata byla důležitým východním bodem při zodpovězení otázky, zda je mikrobiota zapojena do daného procesu či nikoli⁴⁶. V této chvíli se studie rozšiřují také o modely bezmikrobních prasat⁴⁷.

Dalším přístupem ke zkoumání interakcí byly myši kolonizované specifickými bakteriemi (specific pathogen-free) k objasnění mechanismu komunikace mezi konkrétními členy mikrobioty a hostitelským organismem⁴⁸ nebo pomocí přenosu fekální mikrobioty z jednoho jedince na druhého, čímž se vytvoří mikrobiom v gastrointestinálním traktu podobný dárce⁴⁹.

Dále lze použít také antibiotika, kterými se dá sledovat dopad na mozek a chování při změně v mikroflóře⁵⁰.

Závěr

Střevní mikrobiom hraje roli ve funkcích nezbytných pro fyziologii a správný vývoj a jeho složení souvisí s věkem, stravou, fyzickou aktivitou a patologickými stavy. S pokrokem v molekulární a buněčné biologii bylo objasněno složení střevní mikrobioty, avšak interakce mezi hostitelem a mikrobem není dosud zcela vysvětlena. Pochopení role specifických mikroorganismů nabízí možnost vývoje nových strategií, diagnostiky a terapií v onemocnění.

Autoimunitní, zánětlivá a neurodegenerativní onemocnění jsou doprovázeny změnami ve struktuře mikrobioty. Podstatnou otázkou však je, jaká je definice správné a zdravé mikrobioty a zda jsou pozorované změny u jednotlivých chorob spojeny s vývojem nemoci kauzálně či se jedná o důsledek. Na základě těchto poznatků by se mohly navrhnout určitá či personalizovaná probiotika a prebiotika k léčbě různých onemocnění.

Literatura:

1. Sleator RD: *Med. Hypotheses* 74, 214 (2010).
2. Benson AK: *Nat. Genet.* 48, 1301 (2016).
3. Kumar M, Babaei P, Ji B, et al.: *Nutr. Heal. Aging* 4, 3 (2016).
4. Jakobsson HE, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, et al.: *Gut* 63, 559 (2014).
5. Neu J: *Semin. Fetal Neonatal Med.* 21, 373 (2016).
6. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 107, 11971 (2010).
7. Azad MB, Konya T, Maughan H, et al.: *Can. Med. Assoc. J.* 185, 385 (2013).
8. Tamburini S, Shen N, Wu HC, et al.: *Nat. Med.* 22, 713 (2016).
9. Negele K, Heinrich J, Borte M, et al.: *Pediatr. Allergy Immunol.* 15, 48 (2004).
10. Bager P, Wohlfahrt J, Westergaard T: *Clin. Exp. Allergy* 38, 634 (2008).
11. Yatsunenkov T, Rey FE, Manary MJ, et al.: *Nature* 486, 222 (2012).
12. Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey LW, et al.: *Nutr. Rev.* 70, S38 (2012).
13. Sender R, Fuchs S, Milo R: *Cell* 164, 337 (2016).
14. D'Argenio V, Salvatore F: *Clin. Chim. Acta* 451, 97 (2015).
15. Walker AW, Duncan SH, Louis P, et al.: *Trends Microbiol.* 22, 267 (2014).
16. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, et al.: *Science* 308, 1635 (2005).
17. Gaci N, Borrel G, Tottey W, et al.: *World J. Gastroenterol.* 20, 16062 (2014).
18. Parfrey LW, Walters WA, Knight R: *Front. Microbiol.* 2, 153 (2011).
19. Hallen-Adams HE, Suhr MJ: *Virulence* 8, 352 (2017).
20. Nash AK, Auchtung TA, Wong MC, et al.: *Microbiome* 5, 153 (2017).
21. Joshi D, Roy S, Banerjee S: In: *Natural Products and Drug Discovery*. Elsevier; 2018. p. 507–523.
22. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, et al.: *Nature* 444, 1022 (2006).
23. Frank DN, St. Amand AL, Feldman RA, et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 13780 (2007).
24. Girolamo F, Coppola C, Ribatti D: *Brain. Behav. Immun.* 65, 68 (2017).
25. Quigley EMM: *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 17 (2017).
26. Zhang LS, Davies SS: *Genome Med.* 8, 46 (2016).
27. Morris G, Berk M, Carvalho A, et al.: *Mol. Neurobiol.* 54, 4432 (2017).
28. Kasubuchi M, Hasegawa S, Hiramatsu T, et al.: *Nutrients* 7, 2839 (2015).
29. Bailey MT, Dowd SE, Galley JD, et al.: *Brain. Behav. Immun.* 25, 397 (2011).

30. Turnbaugh PJ, Ridaura VK, Faith JJ, et al.: *Sci. Transl. Med.* 1, 6ra14 (2009).
31. Cho I, Yamanishi S, Cox L, et al.: *Nature* 488, 621 (2012).
32. Jung J-Y, Kim I-Y, Kim Y-N, et al.: *BMB Rep.* 45, 419 (2012).
33. Veldhoen M, Brucklacher-Waldert V: *Nat. Rev. Immunol.* 12, 696 (2012).
34. Dombrowski Y, O'Hagan T, Dittmer M, et al.: *Nat. Neurosci.* 20, 674 (2017).
35. Sochocka M, Donskow-Łysoniewska K, Diniz BS, et al.: *Mol. Neurobiol.* 56, 1841 (2019).
36. Hirschberg S, Gisevius B, Duscha A, et al.: *Int. J. Mol. Sci.* 20, 3109 (2019).
37. Salvucci E: *Int. J. Food Sci. Nutr.* 70, 781 (2019).
38. Vandenplas Y, Huys G, Daube G: *J. Pediatr. (Rio. J.)* 91, 6 (2015).
39. Broekaert WF, Courtin CM, Verbeke K, et al.: *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 51, 178 (2011).
40. Mayer EA: *Nat. Rev. Neurosci.* 12, 453 (2011).
41. Yarandi SS, Peterson DA, Treisman GJ, et al.: *J. Neurogastroenterol. Motil.* 22, 201 (2016).
42. Weger BD, Gobet C, Yeung J, et al.: *Cell Metab.* 29, 362 (2019).
43. Aluwihare APR: *Gut* 12, 341 (1971).
44. Kawase T, Nagasawa M, Ikeda H, et al.: *Br. J. Nutr.* 117, 775 (2017).
45. Heijtz RD, Wang S, Anuar F, et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 3047 (2011).
46. Luczynski P, McVey Neufeld K-A, Oriach CS, et al.: *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 19, 1 (2016).
47. Charbonneau MR, O'Donnell D, Blanton LV, et al.: *Cell* 164, 859 (2016).
48. Lyte JM, Proctor A, Phillips GJ, et al.: *Behav. Brain Res.* 356, 221 (2019).
49. Zhang F, Luo W, Shi Y, et al.: *Am. J. Gastroenterol.* 107, 1755 (2012).
50. Fröhlich EE, Farzi A, Mayerhofer R, et al.: *Brain. Behav. Immun.* 56, 140 (2016).

Souhrn

Nguyenová T.T.M.: Lidská střevní mikrobiota

Člověk je kolonizován bilionem mikroorganismů, označovanými jako mikrobiota. Tyto mikroby (bakterie, kvasinky, houby, archaea či parazity) vytváří s hostitelem celistvý superorganismus. Nejvíce je osidlováno střevo, které je zapojeno do osy střevo-mozek, představující obousměrný komunikační kanál mezi centrální a enterickou nervovou soustavou. Tento koncept byl poté rozšířen o mikrobiotu (osa mikrobiota-střevo-mozek). Změny ve složení v mikrobiotě mohou souviset s různými onemocněními.

Klíčová slova: mikrobiota, mikrobiom, osa mikrobiota-střevo-mozek, neurodegenerace, dysbiosis, superorganismus

Summary

Nguyenová T.T.M.: Human intestinal microbiota

Human is colonized by a trillion of microorganisms, called microbiota. These microbes (bacteria, yeast, fungi, archaea, or parasites) forming together with the host a superorganism. The gut is most colonized and is involved in the gut-brain axis, representing a two-way communication channel between the central and enteric nervous systems. This concept was then extended to the microbiota (microbiota-gut-brain axis). Changes in composition of microbiota could be associated with various diseases.

Keywords: microbiota, microbiome, microbiota-gut-brain axis, neurodegeneration, dysbiosis, superorganismus

LIGNIN A JEHO UPLATNĚNÍ V PŘÍPRAVĚ KOVOVÝCH NANOČÁSTIC

Dominik Maršík

Ústav biotechnologie, VŠCHT Praha; marsikd@vscht.cz

Úvod

V současné době nalézají nanočástice uplatnění v téměř každé oblasti lidské činnosti. Jednoduše se o tom lze přesvědčit na volně dostupných webových stránkách The Project on Emerging Nanotechnologies z roku 2005, který vznikl mimo jiné za cílem seznámit širokou veřejnost s pokrokem v oblasti nanotechnologií a který nabízí pravděpodobně nejlepší přehled o komerčně dostupných produktech využívající nanomateriály¹. Z dostupných marketingových dat vyplývá, že největší část spotřebního zboží využívá nanočástice kovu a obecně nejčastěji využívaným nanomateriálem je stříbro². Stále rostoucí spotřeba kovových materiálů ale vyžaduje rovněž zohlednit technologii jejich přípravy. Dostupné fyzikálně-chemické procesy totiž mohou mít negativní dopad na životní prostředí a často vyža-

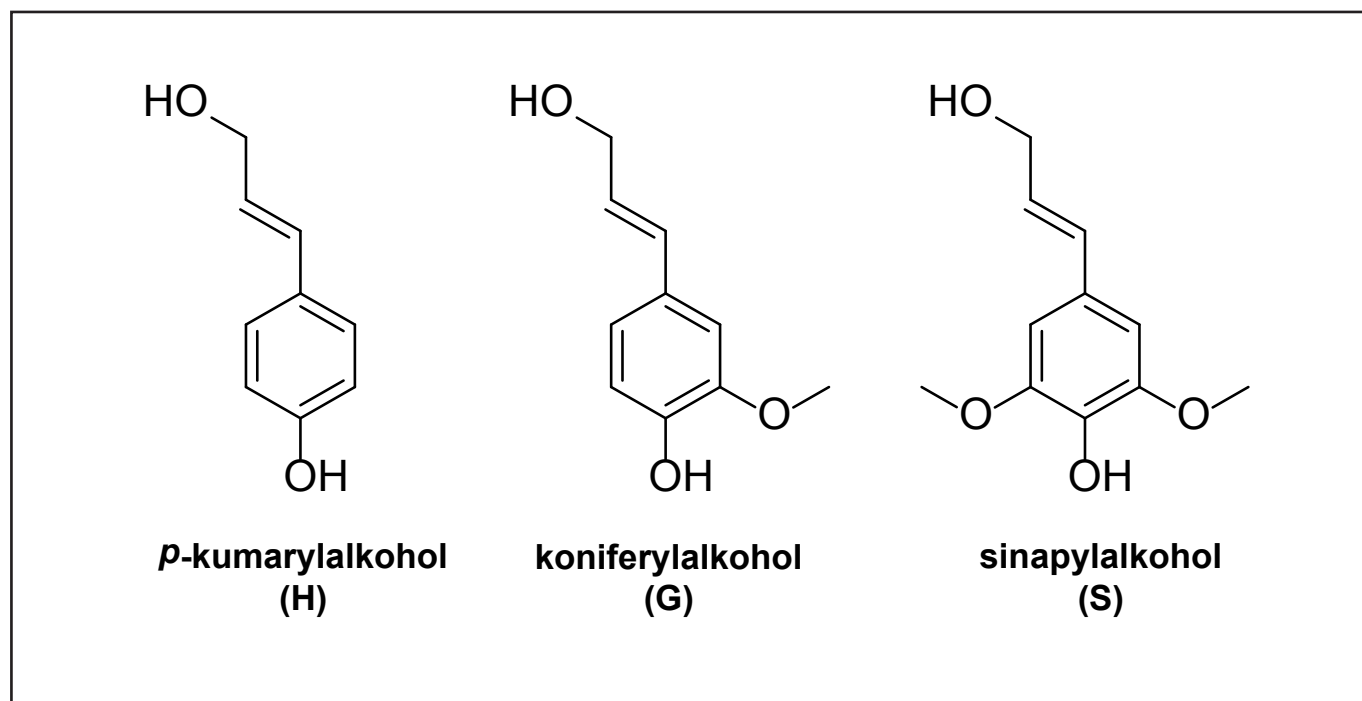
dují ke své přípravě značné množství energie, drahé materiály, vybavení, toxická činidla nebo vedou ke vzniku nebezpečných produktů³. Nanočástice kovů mohou být připraveny velmi jednoduše i s ohledem k životnímu prostředí metodami zelené syntézy. Mezi velmi oblíbené patří využití rostlinných extraktů, které obsahují jak látky redukující soli kovů, tak stabilizující vzniklé nanočástice⁴. Nevýhodou tohoto přístupu je ale strukturní rozmanitost látek obsažených v extraktech, která znesnadňuje identifikaci sloučenin odpovědných za redukci a stabilizaci nanočástic. Navíc kinetika tohoto procesu je obtížně kontrolovatelná a výsledná morfologie a velikost nanočástic se může lišit v závislosti na šarži použitého extraktu⁵. Některé studie se proto zabývají využitím dobře definovaných látek z přírodních zdrojů jako jsou celulóza⁶, škrob⁷, huminové kyseliny⁸ nebo

fibroin extrahovaný z hedvábí⁹. Tyto látky mají ale i další průmyslové aplikace. Lignin však průmyslové uplatnění ve výrobě produktů s přidanou hodnotou téměř nemá, jedná se o dobře dostupný, obnovitelný materiál a lze relativně dobře charakterizovat jeho strukturu¹⁰. Proto se tato práce zabývá využitím a funkcí ligninu v přípravě kovových nanočástic.

Lignin struktura a aplikace

Celosvětová roční produkce lignocelulosové biomasy je 170 až 200 milionů tun. Pokud bude tato biomasa adekvátně využívána, mohla by přispět k přechodu k udržitelnějšímu využívání zdrojů¹¹. Lignocelulosa se skládá převážně z celulosy, hemicelulosy a ligninu. Zastoupení jednotlivých biopolymerů se liší mimo jiné v závislosti na druhu, typu pletiva a stáří rostliny¹². Co se ligninu týče, původ či environmentální podmínky ovlivňují jeho samotnou strukturu sestávající se převážně z guayacylových (G), *p*-hydroxyfenylových (H) a syringylových (S) podjednotek odvozených z odpovídajících hydroxyskořicových alkoholů koniferylalkoholu,

příčemž lignin bez síry je šetrnější k životnímu prostředí a je vzhledem k nepříjemnému zápachu síry vhodnější surovinou pro další aplikace. Lignin bez obsahu síry vzniká například jako vedlejší produkt výroby biopaliv v biorafinériích druhé generace. Dnes se v obou průmyslových odvětvích téměř veškerý lignin pro energetické účely spaluje^{15,18} a pouze 2 % ligninu se používají k jiným účelům. V průmyslovém měřítku se lignin uplatnil například ve výrobě nízkonákladových pojiv pro uhelné brikety, keramiku nebo dřevěné materiály jako překližky a dřevotřískové desky. Komerční potenciál ligninu je ale mnohem vyšší a další uplatnění by mohl nalézt ve výrobě průmyslových chemikálií, olejů, syngasu (směs H₂, CO a malého množství CO₂), sorbentů, baterií a palivových článků nebo jako přísada cementu a další¹⁵. V oblasti nanotechnologií by mohly nanočástice ligninu nalézt uplatnění, vzhledem k vysoké absorpční kapacitě, biologické rozložitelnosti a biokompatibilitě, například v tkáňovém inženýrství, cílení léčiv nebo ve vývoji antifoulingových materiálů. Navíc lze lignin využít pro přípravu kovových nanočástic¹⁸, které jsou



Obr. 1. Struktura základních ligninových prekurozorů *p*-kumarylalkoholu, koniferylalkoholu a sinapylalkoholu tvořících podjednotky ligninu guayacyl (G), *p*-hydroxyfenol (H) a syringyl (S)¹⁰.

p-kumarylalkoholu a sinapylalkoholu (Obr. 1). Mimo hydroxyskořicové alkoholy bylo ve struktuře ligninu identifikováno dalších 32 přirozeně se vyskytujících sloučenin¹⁰. Komplexní a heterogenní struktura nepravidelně zesíťovaných fenylpropanoidních jednotek limituje použití ligninu na výrobu produktů s přidanou hodnotou¹³ a lignin je tak stále považován za průmyslový odpadní produkt¹⁴. Strukturu a vlastnosti ligninu ovlivňuje i samotný izolační proces¹⁵. Největší množství ligninu pochází z papírenského průmyslu, kde se obvykle využívá tzv. kraft neboli sulfátový proces^{16,17}. Získaný kraft lignin má ve své struktuře inkorporovanou síru,

žádané zejména pro své optické, katalytické¹⁹ či antimikrobiální vlastnosti²⁰. Ať už upadající poptávka po papíru, rostoucí objem ligninu jako vedlejšího produktu biorafinérií nebo ekologické aspekty, nakonec přimějí průmysl rozšířit portfolio produktů založených na tomto polymeru^{15,16,21}.

Přehled průmyslových ligninů

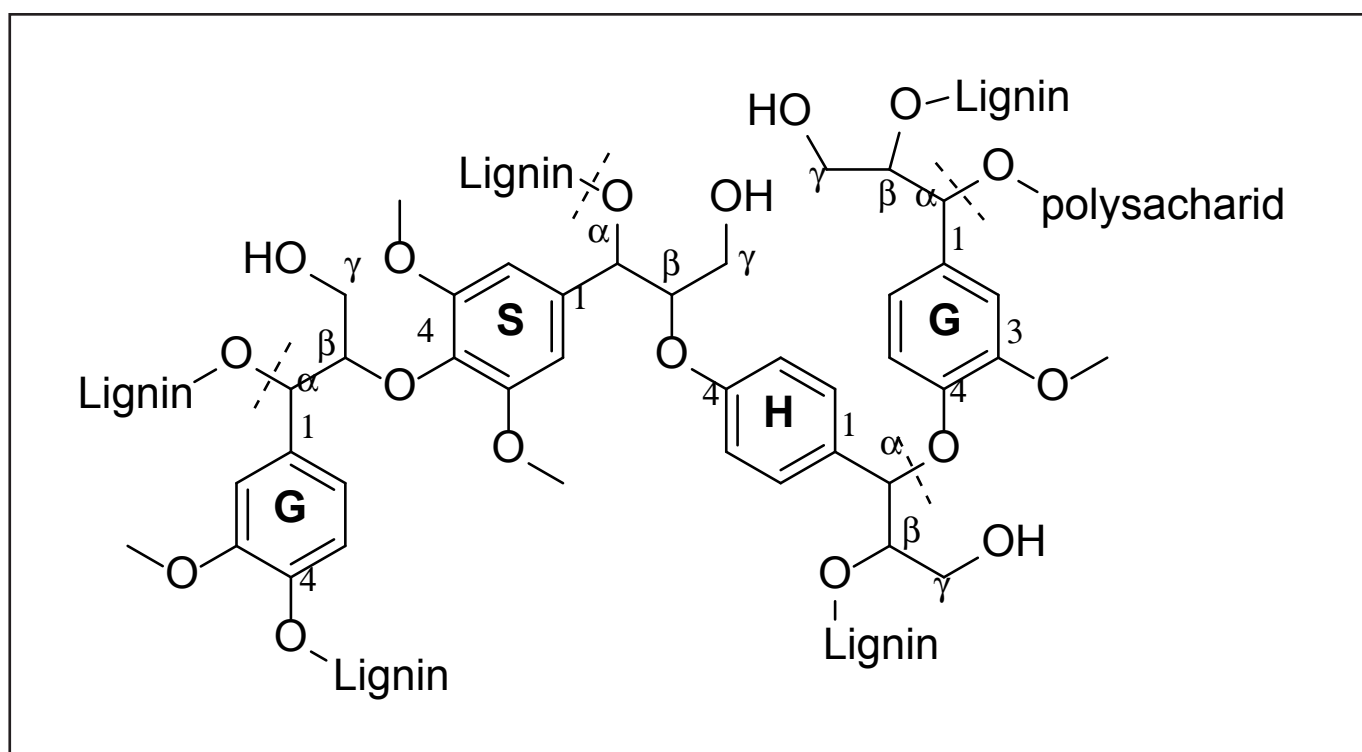
Ligniny lze jednoduše kategorizovat na základě obsahu síry, která je jedním z faktorů určujících směr dalšího průmyslového využití ligninu¹⁵. V současné době rozlišujeme čtyři hlavní průmyslové ligniny – kraft, lignosul-

fonát, organosolv a soda lišící se dále strukturou, vlastnostmi nebo obsahem nečistot²².

Největší množství ligninu, přibližně 85 % celkové produkce, je získáváno sulfátovou neboli kraft metodou. Výťažnost této metody je ve srovnání s ostatními metodami probíhajícími v alkalickém prostředí nejvyšší. Během varu v roztoku hydroxidu a sulfidu sodného se z dřevní štěpky uvolní 90 až 95 % ligninu, jehož makromolekuly jsou štěpeny zejména v pozicích β -O-4 a α -O-4 na fragmenty o menší molekulové hmotnosti, které jsou za těchto podmínek rozpustné a vzniká tzv. černý louh^{17,23}. Kraft proces není ale pouze o reakcích degradačních, ale je na něj potřeba nahlížet komplexně jako na kompetici mezi reakcemi degradačními a kondenzačními, které dávají vzniknout novým C-C vazbám²⁴. Lignin lze z černého louhu jednoduše precipitovat okyselením roztoku kyselinou sírovou nebo oxidem uhlíčitým. Po vysušení se procesem získá hnědý prášek rozpustný v zásaditých vodných roztocích a některých organických rozpouštědlech jako aceton nebo DMSO²⁵. Kraft lignin obsahuje velké množství hydroxylových skupin pocházejících z fenolu a ve své struktuře má navíc inkorporováno značné množství síry, jejíž celkový obsah je obvykle 2 až 3 %²⁶. Roční produkce kraft ligninu je mezi 50 až 90 miliony tun a téměř všechen se spaluje k rekuperaci tepla¹⁶.

tového výluhu obsahujícího rozpuštěný lignin v podobě lignosulfonátu²⁷, který je díky inkorporaci sulfonátových skupin rozpustný ve vodě¹⁷. Výsledné složení varného roztoku je podmíněno konkrétním procesem, ale komplexy sulfátového ligninu obsahují mimo jiné toxické deriváty fenolu a jejich vypouštění odpadními vodami je zakázáno²⁵. Celkový obsah síry se pohybuje mezi 3,5 až 8,0 %¹⁵. Protože je sulfitový proces postupně nahrazován procesem sulfátovým, vyrábějí některé společnosti lignosulfonát z kraft ligninu²⁵.

Frakcionace lignocelulosity ve směsi vody a organického rozpouštědla se nazývá organosolv proces. Nejčastěji používaným extrakčním činidlem je ethanol. Rozvláknění je obvykle podporováno přidavkem katalyzátoru ve formě kyseliny²⁸. Stejně jako kraft lignin nebo lignosulfonát, obsahuje i organosolv ve své struktuře karbonylové a hydroxyfenolové skupiny. V průběhu extrakce organickým rozpouštědlem dochází k přerušování vazeb především mezi polysacharidem a ligninem a α -O-4 vazeb uvnitř makromolekuly ligninu, zatímco β -O-4 vazby jsou štěpeny méně (Obr. 2)²⁹. Tímto šetrnějším procesem frakcionace je možné získat lignin konstrukčně bližší nativní struktuře²⁸. Organosolv je relativně hydrofobní lignin dobře rozpustný v organických rozpouštědlech. Ve srovnání s ostatními ligniny má nízkou molekulovou hmotnost a vysokou čistotu



Obr. 2. Model struktury ligninu s vyznačenými pozicemi štěpení během procesu předúpravy organickými rozpouštědly^{29, 34}.

Další průmyslově rozšířenou metodou výroby papíru je sulfitový proces. K rozvláknění dřevní biomasy dochází za teploty 120 až 150 °C v prostředí kyseliny siřičité a siřičitanových solí jako siřičitan vápenatý, siřičitan sodný, siřičitan hořečnatý nebo siřičitan amonný. Varný roztok se v průběhu procesu dosycuje oxidem siřičitým. Hlavní produkt celulóza je postupně oddělen od sulfi-

tzn. nízký obsah popela a sacharidů. Navíc neobsahuje ve své struktuře síru. V průmyslovém měřítku se však jedná o velmi nákladný proces frakcionace, což limituje jeho rozšíření¹⁶.

Tradiční delignifikační metoda používaná ke zpracování snadno rozvláknitelných lignocelulosových materiálů, obvykle lnu, slámy nebo bagasy, se nazývá soda

proces. Výrobní kapacity tohoto procesu jsou značně omezené z důvodu meziroční variability vstupních surovin¹⁶. Metodicky je soda proces podobný kraft procesu, i zde dochází k fragmentaci nativní struktury ligninu za podmínek zvýšené teploty a silně zásaditého prostředí³⁰. Hlavní rozdíl spočívá v absenci síranu sodného, který je při výrobě sulfátové buničiny redukován na sulfid sodný. Sulfid sodný dále přechází ve vodném prostředí na hydrogensulfid sodný a hydroxid sodný. Přítomnost hydrogensulfidového aniontu během kraft procesu způsobuje kolaps β-O-4 etherové vazby mezi fenolickými jednotkami ligninu a výrazně tak zlepšuje selektivitu, rychlost a celkovou účinnost delignifikace³¹. Naproti tomu, ale během soda procesu nedochází k umělému navýšení obsahu síry v ligninu. Výsledný obsah popele je ve srovnání s organosolv ligninem stále vysoký¹⁵. Obdobně jako u kraft procesu lze lignin okyselením černého louhu precipitovat³⁰.

K frakcionaci lignocelulosity byla vyvinuta celá řada dalších fyzikálních, chemických nebo biologických metod, které lze mezi sebou různě kombinovat. V biorafineriích se mimo organosolv proces využívá například kyselé, alkalické či enzymatické hydrolýzy^{21,32}. Z fyzikálních metod je to například „steam explosion“ proces, při kterém se biomasa po krátkou dobu zahřívá pod vysokým tlakem 7 až 50 bar na teplotu 160 až 260 °C, po které následuje otevření nádoby a prudké uvolnění tlaku. Tlaková kolize způsobuje narušení struktury lignocelulosity a vazeb mezi jejími polymery³³.

Doposud nemáme k dispozici ideální metodu předúpravy lignoceluloso­vého materiálu. Výzvou současného výzkumu je proto mimo jiné její optimalizace nebo vývoj nových postupů tak, aby biorafinerie vedle paliv a chemikálií produkovaly rovněž lignin o vysoké kvalitě, který by bylo možné využít v dalších aplikacích. K tomu je potřeba nalézt kompromis mezi technologickými, ekologickými a ekonomickými aspekty procesu³².

Role ligninu v přípravě kovových nanočástic a jejich aplikace

Lignin obvykle vystupuje v přípravě kovových nanočástic jako redukční, uzavírací a stabilizační činidlo^{5,35-40}. Za redukci a následnou stabilizaci solí kovů stojí zejména hydroxylové, aldehydové a thiolové skupiny. Přítomnost polárních sulfonátových skupin napomáhá rozptylu nanočástic ve vodných roztocích^{35,5}. Postupy a podmínky jsou ve shodě s principy tzv. zelené syntézy, která přináší procesu ekonomické a ekologické benefity.

Stříbrné nanočástice připravené s využitím redukčních vlastností kraft ligninu s nízkým obsahem sulfonátu³⁵ a organosolv ligninu³⁶ byly úspěšně využity ve vývoji nových obalových materiálů na bázi agaru³⁵ nebo poly-laktidu³⁶. Vybrané biologicky rozložitelné a obnovitelné polymery sloužily jako matrice pro stříbrné nanočástice. Vzniklý kompozit byl účinný proti bakteriím kontaminujícím potraviny. Lignin přítomný na povrchu nanočástic navíc zlepšil tepelné a mechanické vlastnosti polymerní

matrice a podpořil parotěsnost a UV bariéru materiálu. V nedávno publikované studii se dále autorům podařilo aplikovat nanočástice stříbra stabilizované kraft ligninem v kolorimetrickém senzoru pro detekci toxických Hg²⁺ iontů³⁷. Kromě stříbrných nanočástic vykazovaly dobré antimikrobiální účinky rovněž nanočástice Cu₂O pokryté kraft ligninem, které byly navíc zajímavé svojí morfologií, protože volně akumulované částice připomínaly tvar brokolice. Další uplatnění by mohly nanočástice Cu₂O nalézt například v elektronice, protože fungují jako vynikající polovodiče typu P³⁸. Cocciovi F. a kol.³⁹ se podařilo s využitím kraft ligninu připravit nanočástice palladia, které byly testovány jako katalyzátor pro křížové vazebné reakce a svojí prací tak volně navázali na R. Hecka, E. Negishio a A. Suzuki, kteří za vývoj křížové vazebné reakce katalyzované palladiem získali v roce 2010 Nobelovu cenu za chemii⁴¹. Nanočástice palladia stabilizované ligninem vykazovaly dobré katalytické účinky a výsledky naznačují, že je možné jejich opětovné použití³⁹. S použitím kraft ligninu, tentokrát ve formě nanočástic, se podařilo připravit rovněž velice stabilní nanočástice zlata, které by mohly nalézt uplatnění například jako aktuátory nebo senzory⁴⁰.

Metodicky odlišný postup zvolili v přípravě nanočástic lignin-kov Figueiredo P. a kol.⁴², kterým se podařilo připravit komplex nanočástice kraft ligninu s povrchově vázaným železem a nanočástice kraft ligninu naplněné Fe₃O₄. Oba konstrukty vykazovaly nízký toxický účinek proti testovaným buněčným liniím, díky čemuž by mohly nalézt uplatnění ve farmaceutickém průmyslu jako vhodné nosiče účinných látek. Supermagnetické vlastnosti ligninových nanočástic naplněných Fe₃O₄ navíc mohou díky možnosti magnetického cílení a dobrého zobrazení pomocí magnetické rezonance posloužit v protirakovinné léčbě.

Závěr

Lignin získaný jakožto odpadní produkt při zpracování lignoceluloso­vé biomasy je vhodný materiál k přípravě kovových, potažmo ligninových nanočástic. Metodické postupy přípravy jsou ve shodě s principy zelené syntézy, která nabízí vhodnou alternativu k současně dostupným fyzikálně-chemickým metodám a měla by být vzhledem k stále narůstající poptávce po nanomateriálech vyvíjena snaha o její převedení do průmyslového měřítka. Přítomnost ligninu ve struktuře kovových nanočástic podporuje stabilitu koloidu a zlepšuje jejich absorpční vlastnosti. Navíc se jedná o slibný systém, který by vzhledem k antimikrobiálním a biokompatibilním vlastnostem ligninu mohl zachovat antimikrobiální účinky kovových nanočástic a zároveň snížit jejich toxicitu pro buňky lidské⁴³. Metodické postupy jsou však závislé i na typu použitého ligninu, který může pozměnit vlastnosti připravených nanočástic. Proto je potřeba provést další rozsáhlé studie zabývající se vztahem mezi typem použitého ligninu v přípravě kovových nanočástic a jejich kýženými vlastnostmi. Současně je potřeba zaměřit se na vývoj procesů frakcionace biomasy, aby byl dobře charakterizovaný lignin dostupný ve vysoké kvalitě a dostatečném množství.

Literatura:

1. The Project on Emerging Nanotechnologies.: An inventory of nanotechnology-based consumer products introduced on the market. <https://www.nanotechproject.tech/cpi/>, staženo 31. října 2021.
2. Vance ME, Kuiken T, et al.: *Beilstein journal of nanotechnology* 6(1), 1769 (2015).
3. Kamran U, Bhatti HN, et al.: *Zeitschrift für Physikalische Chemie* 233(9), 1325 (2019).
4. Singh J, Dutta T, et al.: *Journal of Nanobiotechnology* 16(1), 84 (2018).
5. Hu S and Hsieh Y-L: *International Journal of Biological Macromolecules* 82, 856 (2016).
6. Benaissi K, Johnson L, et al.: *Green Chemistry* 12(2), 220 (2010).
7. Raveendran P, Fu J, et al.: *Journal of the American Chemical Society* 125(46), 13940 (2003).
8. Dubas S and Pimpan V: *Materials Letters* 62, 2661 (2008).
9. Das S and Dhar BB: *RSC Advances* 4(86), 46285 (2014).
10. Vanholme R, De Meester B, et al.: *Current Opinion in Biotechnology* 56, 230 (2019).
11. Thoresen PP, Matsakas L, et al.: *Bioresource Technology* 306, 123189 (2020).
12. Bajpai P (2016). *Pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuel production*, pp. 7: Springer.
13. Chio C, Sain M, et al.: *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 107, 232 (2019).
14. Luo H, Klein IM, et al.: *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 4(4), 2316 (2016).
15. Bajwa DS, Pourhashem G, et al.: *Industrial Crops and Products* 139, 111526 (2019).
16. Haq I, Mazumder P, et al.: *Bioresource Technology* 312, 123636 (2020).
17. Chen H (2015). *Lignocellulose Biorefinery Engineering*, edited by H. Chen, pp. 37: Woodhead Publishing.
18. Iravani S and Varma RS: *Green Chemistry* 22(3), 612 (2020).
19. Sau TK, Rogach AL, et al.: *Advanced Materials* 22(16), 1805 (2010).
20. Gold K, Slay B, et al.: *Advanced Therapeutics* 1(3), 1700033 (2018).
21. Wang H, Pu Y, et al.: *Bioresource Technology* 271, 449 (2019).
22. Wang Y-Y, Meng X, et al.: *Polymers* 12(10), 2277 (2020).
23. Sameni J, Jaffer SA, et al.: *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing* 115, 104 (2018).
24. Gierer J: *Wood Science and Technology* 14(4), 241 (1980).
25. Tsvetkov MV and Salganskii EA: *Russian Journal of Applied Chemistry* 91(7), 1129 (2018).
26. Evdokimov AN, Kurzin AV, et al.: *Wood Science and Technology* 52(4), 1165 (2018).
27. Rajesh Banu J, Kavitha S, et al.: *Bioresource Technology* 290, 121790 (2019).
28. Constant S, Wienk HL, et al.: *Green Chemistry* 18(9), 2651 (2016).
29. Jasiukaitytė-Grojzdek E, Huš M, et al.: *Scientific Reports* 10(1), 11037 (2020).
30. Windeisen E and Wegener G (2012). *Polymer Science: A Comprehensive Reference*, edited by K. Matyjaszewski & M. Möller, pp. 255. Amsterdam: Elsevier.
31. Augusto Q.: The role of sulfidity during kraft pulping. Pulp & Paper Canada 2021. <https://www.pulpandpapercanada.com/the-role-of-sulfidity-during-kraft-pulping/>, staženo 31. října 2021.
32. Galbe M and Wallberg O: *Biotechnology for Biofuels* 12(1), 294 (2019).
33. Keskin T, Nalakath Abubackar H, et al. (2019). *Biohydrogen (Second Edition)*, edited by A. Pandey, S. V. Mohan, J.-S. Chang, P. C. Hallenbeck & C. Larroche, pp. 321: Elsevier.
34. Rößiger B, Unkelbach G, et al.: *Lignin-Trends and Applications* 99, 120 (2018).
35. Shankar S and Rhim J-W: *Food Hydrocolloids* 71, 76 (2017).
36. Shankar S, Rhim J-W, et al.: *International Journal of Biological Macromolecules* 107, 1724 (2018).
37. Xue Y, Qiu X, et al.: *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 6(6), 7695 (2018).
38. Li P, Lv W, et al.: *Journal of Experimental Nanoscience* 11(1), 18 (2016).
39. Coccia F, Tonucci L, et al.: *Inorganica Chimica Acta* 399, 12 (2013).
40. Wang B, Yang G, et al.: *Nanomaterials* 10(9), 1869 (2020).
41. Nobel Prize.: The Nobel Prize in Chemistry 2010. <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2010/summary/>, staženo 31. října 2021.
42. Figueiredo P, Lintinen K, et al.: *Biomaterials* 121, 97 (2017).
43. Hoyo J, Ivanova K, et al.: *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 8(439), (2020).
44. Dahmen N, Lewandowski I, et al.: *GCB Bioenergy* 11(1), 107 (2019).
45. Abdel-Hamid AM, Solbiati JO, et al. (2013). *Advances in Applied Microbiology*, edited by S. Sariaslani & G. M. Gadd, pp. 1: Academic Press.

Souhrn

Maršík D.: Lignin a jeho uplatnění v přípravě kovových nanočástic

Na Zemi vznikne každoročně procesem fotosyntézy přibližně 180×10^{11} tun lignocelulosoové biomasy⁴⁴, ze kterých představuje přibližně 15 až 30 % suché hmotnosti lignin⁴⁵. Přestože se jedná o zásadní zdroj aromatických sloučenin, není, až na pár výjimek, zavedeno jeho průmyslové využití na výrobu produktů s přidanou hodnotou. Největší množství ligninu vzniká jako vedlejší produkt papírenského průmyslu, jehož zisky budou pravděpodobně vlivem rostoucí oblíbenosti on-line komunikace a postupnému snižování závislosti firem na papíru meziročně klesat. Zavedením nových aplikací ligninu by se podařilo zvýšit jeho tržní cenu a tím i zisk firem produkujících lignin. Tento efekt by byl rovněž žádoucí pro biorafinerie druhé generace a nepřímo by podpořil výzkum v oblasti biopaliv a dalších hodnotných chemikálií z obnovitelných zdrojů. Jedna z možností, jak tento odpadní biopolymer využít, je v přípravě kovových nanočástic, které patří mezi komerčně nejvíce používané nanomateriály. Proto tato práce shrnuje nedávné úspěchy v této oblasti včetně možností aplikace připravených nanočástic.

Klíčová slova: lignin, lignocelulosoová biomasa, kovové nanočástice, metody zelené syntézy

Summary

Maršik D.: Lignin and its application in the preparation of metal nanoparticles

The annual production of lignocellulosic biomass by the photosynthesis process on Earth is estimated at 180×10^{11} tonnes⁴⁴, of which approximately 15 to 30 % of the dry weight is lignin⁴⁵. Although it is an essential source of aromatic compounds, its industrial use to produce value-added products, with a few exceptions, is not established. The largest amount of lignin arises as a by-product of the paper industry, whose profits will probably decrease year after year due to the growing popularity of online communication and lower dependence of companies on paper. With the introduction of new applications of lignin, it would be possible to increase its market price and thus the profit of companies producing lignin. This effect would be also desirable for second-generation biorefineries and indirectly support research dealing with biofuels and other valuable chemicals from renewable sources. One of the ways to use this waste biopolymer is in the preparation of metal nanoparticles, which are among the most commercially used nanomaterials. Therefore, this work summarizes recent successes in this area, including the possibility of applying prepared nanoparticles.

Keywords: lignin, lignocellulosic biomass, metal nanoparticles, green synthesis methods.

OBSAH

Úvodem	21
Strnadel J. et al.: Projekt XenoPig – bunkové inžinierstvo a transplantačná chirurgia v boji proti nádorom pankreasu	24
Balák J.: Senzoricky aktivní látky a legislativa ovocných destilátů	27
Kulišová M.: Mořský biofouling a antifoulingové technologie	31
Nguyenová T. T. M.: Lidská střevní mikrobiota	36
Maršík D.: Lignin a jeho uplatnění v přípravě kovových nanočástic	38

CONTENT

Editorial	21
Strnadel J. et al.: XenoPig project – cell engineering and transplant surgery in the fight against pancreatic tumors	24
Balák J.: Sensorically active compounds and legislation of fruit distillates	27
Kulišová M.: Marine biofouling and antifouling technologies	31
Nguyenová T.T.M.: Human intestinal microbiota	36
Maršík D.: Lignin and its application in the preparation of metal nanoparticles	38

REDAKČNÍ RADA

doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D., VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6 (vedoucí redaktor)
prof. Ing. Jan Káš, DrSc., VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6 (redaktor)
doc. Ing. Pavel Ulbrich, Ph.D., VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6 (redaktor)
Ing. Michaela Marková, Ph.D., VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6 (redaktor)
doc. RNDr. Petr Skládal, CSc., Ústav biochemie, PřF MU v Brně, Kamenice 753/5, Bohunice, 601 77 Brno (redaktor)
doc. RNDr. Marek Petřivalský, Ph.D., Katedra biochemie, PřF Palackého univerzity, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc (redaktor)
RNDr. Ivan Babůrek, CSc., Ústav experimentální botaniky AV ČR, v.v.i., Rozvojová 263, 165 02 Praha 6
doc. Ing. Radovan Bílek, CSc., Endokrinologický ústav, Národní 8, 116 94 Praha 1
prof. Ing. Alena Čejková, CSc., VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6
prof. RNDr. Gustav Entlicher, CSc., Katedra biochemie PřF UK, Albertrtov 6, 128 43 Praha 2
RNDr. Milan Fránek, DrSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno
prof. Ing. Ladislav Fukal, CSc., VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6
Ing. Jan Kopečný, DrSc., Ústav živočišné fyziologie a genetiky, AV ČR, v.v.i., Videňská 1083, Praha 4
prof. RNDr. Pavel Peč, CSc., Katedra biochemie, Univerzita Palackého v Olomouci, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc
doc. RNDr. Jana Pěkníková, Ph.D., Biotechnologický ústav AV ČR, v.v.i., Průmyslová 59/5, Vestec, 252 42 Jesenice
RNDr. Vladimír Vala, Teva Czech Industries, s.r.o., Ostravská 29, 747 70 Opava – Komárov
doc. RNDr. Petr Zbořil, CSc., Ústav biochemie, PřF MU, Kotlářská 267/2, 611 37 Brno

POKYNY PRO AUTORY

Rukopis musí být opatřen plným jménem autorů, jejich pracovištěm a e-mailovými adresami. Text se předkládá jako soubor MS Word (doc, docx, rtf) ve formátu jednoduchého řádkování písmem fontu Arial o velikosti 11. Rozsah není při dodržení správné publikační praxe omezen.

Článek má tyto části: Název práce, jména autorů a pracoviště, e-mailová adresa autora, úvod, vlastní text členěný do kapitol, závěr, příp. poděkování, citace literatury, český souhrn a klíčová slova a anglický souhrn a klíčová slova. Odkazy na literaturu se číslují v pořadí, v jakém přicházejí v textu a jsou uváděny formou exponentu (bez závorek) v příslušném místě textu (včetně tabulek a obrázků). Zkratky časopisů se používají podle zvyklosti Chemical Abstract Service Source Index.

Příklady citací: Horgan AM, Moore JD, Noble JE, et al.: *Trends Biotechnol.* 28, 485 (2010).

Lowestein KA: *Silicones. A Story of Research.* Wiley, New York 2006.

Fujiki M (2008): Helix generation, amplification, switching, and memory of chromophoric polymers.

In: *Amplification of Chirality, Topics in Current Chemistry* 248 (Soai K ed.), Springer, Berlin, 119–201.

Novák Z: Disertační práce, VŠCHT Praha 2008.

<http://www.fs.fed.us/research/>, staženo 3. září 2011.

Tabulky se označují římskými číslicemi. Každá tabulka je opatřena názvem a popisem umístěným nad tabulkou. Obrázky se číslují arabskými číslicemi (příklad formátu **Obr. 1:**). Každý obrázek musí být opatřen legendou, která jej činí jednoznačně srozumitelným (tj. bez nutnosti hledat nezbytné informace v textu). Obrázky nekládejte do textu rukopisu, ale zasílejte je samostatně v některém z běžných formátů např. tif, jpg (rozlišení 300 dpi).

Rukopisy je třeba zaslat e-mailem na adresu jan.kas@vscht.cz nebo na petra.lipovova@vscht.cz. Bližší informace naleznete na <http://bts.vscht.cz>.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

The manuscript must be provided with the full name of authors, the institutions name and with e-mail addresses. Text is presented in a MS Word (doc, docx, rtf) format, single line spacing, font Arial, font size 11. The size is not restricted.

The article contains the following sections: title, authors and institutions, e-mail address of the corresponding author, introduction, text divided into chapters, conclusions, references, summary and keywords in English, summary and keywords in Czech. References are numbered according to their appearance in the text and as an exponent (without parentheses) in the appropriate place in the text.

Examples: Horgan AM, Moore JD, Noble JE, et al.: *Trends Biotechnol.* 28, 485 (2010).

Lowestein KA: *Silicones. A Story of Research.* Wiley, New York 2006.

Fujiki M (2008): Helix generation, amplification, switching, and memory of chromophoric polymers.

In: *Amplification of Chirality, Topics in Current Chemistry* 248 (Soai K ed.), Springer, Berlin, 119–201.

Novák Z: Diploma thesis, UCT Prague 2008.

<http://www.fs.fed.us/research/>, downloaded 1st September 2011.

Tables are numbered by Roman numerals. Each table is provided with a name and description placed above the table. Pictures are numbered in Arabic numerals (example format **Fig. 1:**). Each image must be provided with a legend. Pictures should be sent separately in a common format such as tif, jpg (resolution 300 dpi). Manuscripts should be sent to the e-mail address jan.kas@vscht.cz or petra.lipovova@vscht.cz. More information can be found on <http://bts.vscht.cz>.

BIOPROSPECT

Vydavatel:
BIOTECHNOLOGICKÁ SPOLEČNOST
Technická 3
166 28 Praha 6
IČ: 00570397

Zapsán do evidence periodického tisku a bylo mu přiděleno evidenční číslo:
MK ČR E 19409

Zařazen do Seznamu recenzovaných neimpaktovaných periodik
vydáváných v ČR

Tiskne:
VENICE Praha, s.r.o.
Za Hanspaulkou 13/875
160 00 Praha 6

ISSN 1210-1737 (Print)
ISSN 2570-8910 (Online) – <http://bts.vscht.cz/bioprospect.html>

Neprodejné – jen pro členy Biotechnologických společností.

Stránky biotechnologické společnosti (<http://bts.vscht.cz>)
jsou archivovány Národní knihovnou ČR (www.webarchiv.cz).