

**BIOTECHNOLOGICKÁ  
SPOLEČNOST**  
166 28 Praha 6, Technická 3

**ISSN 1210-1737**

**Neprodejné – jen pro členy Biotechnologických společností**

Podávání novinových zásilek povoleno Ředitelstvím pošt Praha, čl. NP 1177/1994 ze dne 13. 6. 1994

---

# B I PROSPECT

---

Šestnáctý ročník  
Číslo 2/2006

Adresa společnosti: VŠCHT, Technická 3, 166 28 Praha 6, tel.: 220 443 151, fax: 233 334 769, e-mail:  
Danka Pokorná@vscht.cz, IČO 00570397, číslo účtu: 19534-061/0100 Komerční banka Praha 6, Dejvická 52,  
SWIFT CODE: COMBCZTPP

---

**BULLETIN  
BIOTECHNOLOGICKÉ  
SPOLEČNOSTI**

**zakládajícího člena Českého svazu  
vědeckotechnických společností  
(ČSVTS)**

**a**

**člena „European Federation  
of Biotechnology“ (EFB)**

## **Redakční rada**

RNDr. Tomislav Barth, DrSc  
ÚOCHB AVČR, Flemingovo n. 2, 166 10 Praha 6  
(Editor)

RNDr. Milan Fránek, DrSc  
Výzkumný ústav veterinárního lékařství  
Hudcova 70, 621 32 Brno

Ing. Petra Lipovová, Ph.D.  
VŠCHT, Technická 3, 166 28 Praha 6  
(Editor)

Prof. Ing. Jan Káš, DrSc  
VŠCHT, Technická 3, 166 28 Praha 6

Doc. Ing. Ladislav Fukal, CSc  
VŠCHT, Technická 3, 166 28 Praha 6  
(Editor in Chief)

Ing. Pavel Ulbrich, Ph.D.  
VŠCHT, Technická 3, 166 28 Praha 6  
(Editor)

RNDr. Vladimír Vala  
Ivax, Ostravská 29, 747 70 Opava

RNDr. Tomáš Vaněk, CSc  
ÚOCHB AVČR, Flemingovo n. 2, 166 10 Praha 6

Bc. Pavel Jenč  
VŠCHT, Technická 3, 166 28 Praha 6

---

# B I P R O S P E C T

16<sup>th</sup> Volume  
No. 2/2006

---

Society address: ICT, Technická 3, 166 28 Praha 6, tel.: 420-220 443 151, fax: 420-233 334 769, e-mail: [danka.pokorna@vscht.cz](mailto:danka.pokorna@vscht.cz), IČO 00570397, account No.: 19534-061/0100 Komerční banka Praha 6, Dejvická 52, SWIFT CODE: COMBCZTPP

---

## **BULLETIN OF CZECH BIOTECHNOLOGY SOCIETY**

member of European Federation  
of Biotechnology

### **SUMMARY**

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 and Slovak 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. In each issue there will be advertisements of products such as chemicals, diagnostics, equipment and apparatus, which have already appeared on the Czech and Slovak 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 cooperations 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 and Slovak Republic, to advertise in the Bulletin BIOPROSPECT, which is mailed directly to more than one and a half thousand Czech and Slovak biotechnologists.

For more information contact the editorial board or directly:

Ladislav Fukal, Ph.D. (editor in chief)

ICT, Technická 3

166 10 Prague 6, Czech Republic

Phone +420 220 445 137

e-mail: [fukall@vscht.cz](mailto:fukall@vscht.cz)

## V TOMTO ČÍSLE NAJDETE

ÚVODEM	1
ALERGENY V ROSTLINNÉ STRAVĚ	2
SEKUNDÁRNÍ METABOLITY V ROSTLINNÁCH	4
CHŘIPKA A SOUČASNÉ PŘÍSTUPY K JEJÍ LÉČBĚ	9
TRANSGENNÍ ŽIVOČICHOVÉ	12
CHARAKTERIZACE ODRŮD JABLEK MOLEKULÁRNĚ BIOLOGICKÝMI METODAMI	15
BIOETHANOL JAKO ALTERNATIVNÍ PALIVO	18
BIODIESEL – EKOLOGICKÉ PALIVO BUDOUCNOSTI?	21

### POKYNY PRO AUTORY

Vážení přátelé,  
aby byla technická úprava našeho časopisu co nejlepší a s minimálním množstvím chyb, uvítali bychom dodržování některých dále uvedených zásad.

1. Texty zasílejte elektronickou formou jako "attachment" spolu s tištěnou verzí, aby bylo možno opravit chyby způsobené přenosem.
2. Texty pište v editoru **WORD** (formát .doc), písmo **Arial**, velikost 11. Nerozdělujte slova na konci řádků. V textu lze používat zvýraznění některých termínů tučným písmem či kurzívou, a také horní a dolní index. Řádkování jednoduché. Odsazení odstavců a mezery mezi nimi nepoužívejte (nastavení = 0).
3. Nepoužívejte automatické číslování, tabulátory, ani „tvrdé“ definice stránek.
4. Obrázky zasílejte **zásadně zvlášť** v některém z běžných formátů (.jpg, .tif).
5. Připojte vždy svojí e-mailovou adresu či číslo telefonu, aby případné problémy bylo možno rychle řešit.

Děkuji

L. Fukal

# ÚVODEM

Vážení přátelé,

dostáváte dnes do rukou druhé číslo již 16. ročníku našeho Bioprospectu. I dnes jsme pro Vás připravili řadu přehledných článků o vybraných aktuálních tématech současných biotechnologií. Všímáme si možnosti náhrady fosilních paliv pro motorová vozidla palivy alternativními připravenými z obnovitelných surovin, a to jak biolíhu jako částečné či úplné náhradě benzínu a bionafty (biodieslu) jako náhradního paliva pro dieslové motory. Jak je Vám známo, pravidelně se věnujeme i praktickým aplikacím molekulární biologie. Z této oblasti si můžete přečíst zajímavé články o charakterizaci odrůd jablek molekulárně biologickými metodami a o transgenních živočiších. Nezapomínáme ani na klasické mikrobiální technologie, které odstartovaly prudký rozvoj moderních biotechnologických procesů. Všímáme si i sekundárních metabolitů v rostlinách, alergenů v rostlinné stravě a možností léčby chřipky.

Jak jsme slibovali v minulém čísle spustili jsme naši webovou stránku <http://bts.vscht.cz>, zatím jen v češtině a i česká verze dozná ještě řadu úprav, dopracování a zejména rozšíření rubrik. Budeme Vám vděční za Vaše náměty a připomínky. Doporučujeme Vám zejména možnost podívat se na řadu zajímavých biotechnologických stránek, které si otevřete pouhým kliknutím.

Informace o biotechnologické literatuře získáte i na <http://gmo.vscht.cz> (odkaz publikace), na portálu Jihomoravského inovačního centra [www.gate2biotech.com](http://www.gate2biotech.com) a na webových stránkách společnosti Biotrin [www.biotrin.cz](http://www.biotrin.cz), kde si můžete otevřít i nově koncipovaný internetový bulletin „Svět biotechnologií“ (dvě letošní čísla).

Otevřete-li si internetovou stránku [www.european-biotechnology-news.com](http://www.european-biotechnology-news.com) a kliknete-li links dostanete se na jednotlivé webové stránky řady evropských biotechnologických společností a asociací. Po otevření anglické verze našich webových stránek hodláme se i my k projektu připojit. Informace o stanoviscích Evropské komise k biotechnologiím jsou publikovány na webové adrese <http://bio4eu.jrc.es>. EU považuje moderní biotechnologie za hlavního přispěvatele k dosažení jejích ekonomických cílů, tvorbě pracovních míst, ochraně životního prostředí a realizaci trvalého a udržitelného rozvoje. Můžete se i podívat na „biotechnologickou televizi“ na [www.biobusinessstv.com](http://www.biobusinessstv.com), která je ovšem výhradně komerčně orientovaná.

Závěrem bych Vás všechny rád požádal abyste laskavě uhradili své členské příspěvky za letošní rok, pokud jste tak dosud neučinili a pokusili se získat nové členy, zejména institucionální.

Věřím, že toto i další připravovaná čísla Bioprospectu, stejně tak jako webové stránky se Vám budou líbit. Snažíme se, aby zde poskytované informace měly co nejširší záběr. K tomuto cíli nám můžete pomoci jen Vy. Uvítáme nejen přehledné články, ale i sebekratší informace o různých událostech, změnách ve firmách (změny výrobního programu, osobní zprávy, atd.). Na internetových stránkách rádi zveřejníme i informace o pracovních příležitostech, nových výrobcích, firemních akcích a dalších aktivitách, které by mohly naše členstvo zajímat.

S mnoha pozdravy

Váš

Jan Káš

## ALERGENY V ROSTLINNÉ STRAVĚ

Jana Herinková

*Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha*

### Potravinová alergie

Bez jídla člověk vydrží maximálně 1 – 2 měsíce. Průměrně spotřebuje asi 1 kg potravin za den. Jídlo je nejen základní potřebou, ale i požitkem a součástí kultury společnosti. Pro některé z nás se však může stát zdrojem obtíží a chorob.

Nežádoucí reakce na požití potravy mohou být různého druhu. Laicky se „alergie na potraviny“ říká všem potížím spojeným s požitím potravy. Ty se pochopitelně vyskytují často. Medicínsky je však potravinová alergie definována jako abnormální imunitní reakce na potraviny, která vyvolává klinické příznaky. A ta je naštěstí vzácná.

Pravou potravinovou alergií trpí podle odhadu okolo 1,5 % dospělých a přibližně 5 – 7 % dětí. Alergie neboli přecitlivělost je abnormální imunologická reakce na nějakou součást vnějšího prostředí. Látky, které jsou schopny vyvolat imunologickou reakci, jsou označovány jako antigeny. Reakce na antigeny, zejména mikrobiální, je normální fyziologickou funkcí imunitního systému, zajišťující obranyschopnost organismu. U některých lidí však vyvolávají imunitní reakci i neškodné látky ze zevního prostředí. Látka, která nežádoucí imunitní reakci (alergii) vyvolala, se nazývá alergen.

Imunitní systém odpovídá na antigeny různými reakcemi, v nichž se uplatňuje výkonný imunitní mechanismus – buď reakce humorální nebo reakce buněčná. Při prvním z nich se tvoří rozpustné bílkoviny, zejména imunoglobuliny; při buněčné reakci se aktivují specifické bílé krvinky (lymfocyty T a další). Tyto dva imunitní mechanismy mají fyziologickou roli v obraně proti infekcím. Protilátková reakce se uplatňuje zejména v obraně proti bakteriím a parazitům, buněčná imunita nás chrání především proti virovým a plísňovým onemocněním. U alergických jedinců jsou tyto reakce zaměřeny také vůči alergenům. Vzhledem k tomu, že však jde vesměs o látky neškodné, jsou alergické reakce nežádoucí – zbytečně poškozují organismus. Nejčastějšími alergickými chorobami jsou alergická rýma, průduškové astma a atopická dermatitida. Výkonnými mechanismy alergických reakcí jsou buď tvorba protilátek, nebo aktivace buněčné imunity. Nejčastěji se uplatňuje atopie. Atopik reaguje na přítomnost alergenu tvorbou imunoglobulinů třídy E, jež mají své specifické receptory na žírných buňkách. Tyto protilátky se vytvoří po prvním setkání s alergenem a naváží se na žírné buňky v kůži a ve sliznicích. Setká-li se člověk s určitým alergenem podruhé, naváže se alergen přímo na imunoglobuliny E na povrchu žírných buněk. Obsah měchýřků uložených v cytoplazmě se v důsledku toho vylije vně buňky. Měchýřky obsahují množství látek způsobujících klinické projevy

alergií. Patří k nim histamin, který se vylije během několika minut, proto se tato reakce nazývá přecitlivělost časného typu – klinické potíže nastanou záhy po požití potravy.

Kromě toho se můžeme setkat i s oddáleným typem přecitlivělosti, zprostředkovaným buněčnou imunitou. Potíže se objeví několik dní po požití potravy. Je zřejmé, že delší časový interval znesnadňuje diagnostiku. Příkladem tohoto typu alergické reakce může být vznik atopické dermatitidy po požití mléka, zejména u dětí. U dospělých se někdy může projevit kontaktní alergie na nikl vznikem kopřivky po jídle. Onemocněním, které lze také do určité míry považovat za potravinovou alergii, je celiakie. Ta je způsobena abnormální reakcí na proteiny obilnin, zejména na lepek.

Určit potravu nebo látku, která alergii vyvolává, může být velmi problematické. Vlastnosti látek se mohou měnit v důsledku tepelné úpravy – alergii například vyvolává potravina jen v syrovém stavu, po uvaření již nikoliv (vzácněji i obráceně). Potraviny obsahují také různé přísady (aditiva), barviva a konzervační látky, nebo jsou v nich stopy chemikálií. Například reakce po požití masa nemusí být alergií na maso, ale na antibiotika, kterými bylo zvíře léčeno. Přes velkou rozmanitost složek potravin se jich jako potravinový alergen projevuje jen několik: bílkovina kravského mléka, vaječný bílek, rybí maso, ořišky, vzácněji pak sojové boby a obilí, zelenina a ovoce. V ojedinělých případech se však může jako alergen uplatnit kterákoliv potravina. Potravinová alergie může být také chorobou z povolání, vyvolanou kontaktem s potravinami v pracovním prostředí (např. pekařské astma způsobené vdechováním mouky).

Z chemického hlediska jsou potravinové alergenové většinou glykoproteiny s molekulovou hmotností 10000 – 40000 a mají velmi rozdílné fyzikální vlastnosti. Jestliže se vyvine alergie na určitou potravinu, není vzácností, že jedinec reaguje díky zkřížené reaktivitě i na podobné druhy potravin, někdy však i na zcela odlišné. Situace je komplikována také tím, že projevy potravinové alergie jsou častější u člověka, který zároveň trpí i jinými formami alergií (např. atopickou dermatitidou, astmatem, sennou rýmou). Podobná struktura některých bílkovin způsobuje zkříženou reaktivitu na zdánlivě nepřibuzné látky – například některé antigeny obsažené v bříze, které vyvolávají pylovou alergii, se vyskytují také v jablku.

### Alergeny v rostlinné stravě

Nyní se zastavíme u konkrétních, nejčastěji alergizujících, potravin rostlinného původu. Jako potravinový alergen působí ořišky. V našich podmínkách je častější

alergie na lískové oříšky. Arašídů patří k nejčastějším příčinám úmrtí v důsledku těžké anafylaktické reakce. Jsou nejčastější příčinou potravinové anafylaxe ve Velké Británii, Švédsku a USA. Přitom např. v tropické Africe, kde je konzumace arašídů rozšířená, se alergie na arašídů nevyskytují. Nabízí se vysvětlení, že je to způsobem úpravy arašídů. V Africe konzumují vařené arašídů, zatímco v Evropě a v USA je běžným způsobem úpravy pražení, které vede ke zvýšení obsahu alergenů. Prahová dávka arašídů, která postačuje k vyvolání anafylaktické reakce, je velmi nízká. Řada těžkých, i smrtelných anafylaktických reakcí vznikla po nevědomém požití, protože arašídů se vyskytují často ve skryté formě a jako kontaminace. Tyto skutečnosti jsou jasným dokladem pro nutnost alergického jedince informovat o přítomnosti arašídů ve výrobku bez ohledu na jejich množství. Vedle obávaných celkových anafylaktických reakcí mohou arašídů způsobovat zhoršení chronických onemocnění, jako je průduškové astma a atopický ekzém. Alergie na arašídů je častá u pylových alergiků v důsledku zkřížené reakce. Rizika známá u arašídů lze zcela vztáhnout i na ořechy. Typická je zkřížená reaktivita mezi ořechy, ale i mezi ořechy a arašídů, přestože jsou botanicky vzdálené.

Z ovoce se jako alergen nejvíce uplatňuje jablko (mnohdy společně s alergií na pyl břízy a olše), dále broskve. Často popisovaná kopřivka po jahodách bývá způsobena farmakologickými účinky jahod, nejde většinou o pravou alergii. Výsev kopřivky proto závisí zejména na množství požitých jahod. Vzácně se popisuje alergie na banán, která může být zkřížená s alergií na latex (obsahují jej např. gumové rukavice, prezervativy) a je způsobena vysokým obsahem histaminu. Nárůst potravinových alergií jde částečně na vrub nově se vyskytujících alergických reakcí na exotického ovoce jako je kiwi, mango, papája, které se rozšířily na evropský trh. Přitom jde často o reakce závažné.

Mezi luštěninami jsou největšími alergeny již zmíněné burské oříšky a dále sója. Sója je známou příčinou zhoršení atopického ekzému, hlavně u dětí. Nedávné studie prokázaly, že sója obsahuje alergeny, které vyvolávají také těžké, dokonce fatální anafylaktické reakce. Nejzávažnější reakce jsou často provokovány nevědomým požitím sóji v masných výrobcích apod. Vzácněji se vyskytuje alergie na hrášek nebo fazole. Tyto potraviny obsahují hodně rostlinných lektinů, které mohou způsobit uvolnění mediátorů z buněk i bez specifické imunologické reakce.

Ze zeleninových alergenů jmenujme na prvním místě celer, který je silným alergenem a jeho schopnost alergizace tepelnými úpravami nemizí. Reakce na požití celeru mohou mít i charakter anafylaktického šoku. Při kuchyňské práci s celerem vznikají také lokální reakce – kopřivka na ruku, rýma nebo slzení očí. Zkřížená může být reaktivita s petrželí, fenyklem, zeleným pepřem, kmínem a koriandrem, popřípadě i s pylem pelyňku.

Obiloviny alergizují svým obsahem albuminů a globulinů. Nejzávažnějším druhem reakce na lepek

(bílkovinu obilí) je celiakie. Sklon k této chorobě má asi každý dvousetpadesátý člověk.

Pšeničná mouka je významným zdrojem alergenů pro děti s atopickým ekzémem. V dospělosti vyvolává časté vzplanutí atopického ekzému a chronické zažívací potíže. Jako příčina anafylaktické reakce je popisována, následuje-li po požití tělesná námaha.

Brambory obsahují termolabilní alergeny, proto se setkáváme spíše s reakcemi lokálními, vznikajícími při práci se syrovými bramborami.

### **Diagnóza potravinové alergie**

Přijde-li pacient na vyšetření s podezřením na potravinovou alergii, zjišťujeme charakter klinických příznaků, časové intervaly vzniku příznaků od požití potraviny, složení potravy (včetně druhu kuchyňské úpravy), výskyt jiných alergických onemocnění u pacienta i jeho rodinných příslušníků. Cílem je mimo jiné odlišit potravinové nesnášenlivosti od pravé alergie. Vede-li klinické podezření k určité potravíně nebo skupině potravin, lze hypotézu ověřit laboratorním vyšetřením specifických protilátek třídy IgE vůči určité potravíně.

Další možností jsou kožní testy. Existuje málo standardizovaných extraktů, proto lze někdy použít přímo potravinu, jejíž kapku nebo drobek aplikujeme na kůži, provedeme drobný vpich a sledujeme vznik kožního pupenu. K vyloučení psychických vlivů je někdy dobré provést test zároveň s kontrolní látkou. Ani kožní testy, ani vyšetření specifických protilátek IgE nelze uplatnit u alergií způsobených jinými imunologickými mechanismy, než je časný typ přecitlivělosti.

Pokud máme podezření na určitou potravinu podpořenou kožním testem nebo vyšetřením IgE, následuje eliminační dieta.

Někdy ani anamnéza, ani laboratorní vyšetření nestačí, a proto musíme sáhnout k diagnostické dietě. Jídlo se po určitou dobu omezí na minimum, postupně se přidávají jednotlivé potraviny a sleduje se, kdy a po čem se objeví příznaky.

Poslední možností je zátěžový test. (Ten se musí provádět v odborných ambulancích se zajištěním lékařské pomoci.) Pacient pojídá postupně se zvyšující dávkou podezřelou potravinu a lékař sleduje, kdy se objeví klinické příznaky.

### **Léčba potravinové alergie**

Jedinou racionální léčbou potravinové alergie je vyloučení příslušné potraviny z jídelníčku. K tomu je samozřejmě nutno zjistit, která potravina alergii vyvolává. I když se alergen zjistí, je třeba pacienta podrobně poučit, kterým potravinám se má vyhýbat.

Léčiva blokující účinek histaminu (antihistaminika) mají význam pro zmírnění některých symptomů potravinové alergie, jako je svědění, kopřivka ad. Při závažných reakcích (např. při anafylaktickém šoku) je lékem první pomoci adrenalin. Pokud se u pacienta někdy takto závažná reakce vyskytla, vybavíme jej stříkačkou s adrenalinem (musí být poučen, kdy a jak

lze adrenalin aplikovat). Při alergii na více potravin nebo v případě, že se nepodaří určit alergen, podáváme přípravek Nalcrom obsahující látku, která brání vylití váčků žírných buněk. Imunoterapie spočívající v opakované aplikaci stále vyšších dávek alergenu, která bývá u některých druhů alergie účinná, se při potravinové alergii neosvědčila. Potěšitelný je fakt, že řada dětí ze své potravinové alergie „vyroste“. Lze to vysvětlit snižující se propustností střeva a postupným „dozríváním“ střevního imunitního systému.

### Prevence potravinové alergie

Vznik alergie je obvykle předurčen geneticky. Přesto bývají účinná preventivní opatření, která nástup alergie

oddálí nebo alespoň omezí závažné klinické příznaky. U dětí alergiků, které jsou alergií více ohroženy, by měla matka v těhotenství i při kojení dodržovat určitou dietu, kterou je třeba konzultovat s klinickým imunologem a alergologem.

### Literatura

<http://www.potravinova-alergie.info/>  
[http://www.chpr.szu.cz/vedvybor/dokumenty/studie/alerg\\_2003\\_3\\_deklas.pdf](http://www.chpr.szu.cz/vedvybor/dokumenty/studie/alerg_2003_3_deklas.pdf)  
<http://www.stripky.cz/nemoci/alergie.html#6>  
[http://www.vesmir.cz/soubory/1998\\_V612-614.pdf](http://www.vesmir.cz/soubory/1998_V612-614.pdf)

## SEKUNDÁRNÍ METABOLITY V ROSTLINÁCH

Tomáš Sára

*Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha*

Již odedávna byly rostliny člověkem používány i k jiným účelům než jen jako potrava. Jsou známy terapeutické účinky léčivých bylin, stejně tak jako jedovaté a omamné látky v rostlinách. Dochucování jídla kořením je naprostou samozřejmostí; existují důkazy o používání koření již člověkem neandrtálským. Všechna tato využití rostlin mají svůj původ v látkách, jež rostliny obsahují, tedy v sekundárních metabolitech.

### Úvod

Sekundární metabolismus je soubor speciálních cest látkové přeměny, který probíhá jen v některých biologických druzích, v určitých tkáních nebo fázích vývoje. Sekundární metabolity jsou definovány jako nízkomolekulární látky, které nejsou nezbytně nutné pro přežití producenta, ale dávají mu jistou selektivní výhodu. Termín „sekundární“ poprvé použil rostlinný fyziolog Albrecht Kossel r. 1891, neboť věřil, že tyto látky nemají pro organismus žádný větší význam. Dnes již víme, že sekundární metabolity jsou pro řadu druhů v jistých případech zcela nezbytné, nicméně toto označení je již pevně zažitě, i když nepřesné. Mezi sekundární metabolity se totiž řadí například i živočišné hormony nebo některé koenzymy.

Produkce sekundárních metabolitů tedy zdaleka není výsadou rostlin, jejich tvorbu pozorujeme také v bakteriích, houbách i u živočichů. Někteří vyšší živočichové jsou schopni produkce *de novo*, ale také využívají látky, které získali z rostlin. Příkladem může být nažloutlá barva tukových tkání, kterou způsobují lipofilní barviva karotenoidy.

Syntéza sekundárních metabolitů je úzce spjata s primárním metabolismem. Jejich prekurzory často bývají klíčové sloučeniny nejdůležitějších metabo-

kých drah jako kódované aminokyseliny, acetyl- a sukcinyl-CoA, stejně tak i ostatní karboxylové kyseliny, isopentenyl difosfát, sacharidy a další. Tato syntéza je vysoce organizovaný proces, který u rostlin a ostatních mnohobuněčných organismů s výhodou využívá specializace buněk a tkání.

Současný výzkum sekundárních metabolitů je zaměřen především na rostliny, a to z toho důvodu, že rostlinné látky jsou skupinou nejznámější a také nejpočetnější. Jak již bylo řečeno, sekundární metabolismus je velice komplexní a jeho produkty nejsou zdrojem energie, stavebních ani zásobních látek. Je tedy logické, že tvorba těchto sloučenin je velkým energetickým výdajem bez náhrady. Důvodů proč rostliny syntetizují tolik druhů sloučenin je několik: rostliny nemají imunitní systém a potřebují se bránit, nemohou se pohybovat a také nemají vylučovací systém, který by sloužil k detoxikaci.

Funkce sekundárních metabolitů jsou tyto:

Efektory působící buď intracelulárně, intercelulárně (hormony, mediátory) nebo mezi organismy (barviva, vůně a jiné atraktanty, jedy a různé obranné látky).

Faktory dávající ekologickou selektivní výhodu, látky umožňující přežít v nestandardních podmínkách nebo využívat alternativní látkové zdroje.

Skladovací a odpadní formy produktů primárního metabolismu (např. rostliny nejsou schopny degradovat aromatické aminokyseliny).

Dodnes je známo přes 100 000 struktur a odhaduje se, že jen v rostlinách tento počet přesáhne 500 000. Klasifikace těchto látek je složitá a existuje několik hledisek (struktura, funkce, atd.), které však samy o sobě nikdy zcela nepostačují. Proto se vžil dělení sekundárních metabolitů podle kombinovaného pohledu na funkci a strukturální příbuznost. Je to úzus,



který používá převážná většina autorů, aby bylo možno se v nepřeberném množství sloučenin vyznat.

## Alkaloidy

Je to nejpočetnější a zároveň nejrůznorodější skupina sekundárních látek. Jako alkaloidy označujeme bazické heterocykly s alespoň jedním atomem dusíku v molekule. Uvnitř této skupiny se pak látky dělí podle typu heterocyklické struktury. Rozeznáváme např. pyridiny, piperidiny, pyrrolidiny, tropany, isochinoliny, indoly, steroidní heterocykly, xanthiny atd. Funkce alkaloidů jsou opět velmi různé, co však mají společné je silný a specifický fyziologický účinek zvláště na živočišný organismus. Mnohé alkaloidy jsou prudké jedy, iritanty, narkotika, stimulanty nebo halucinogeny. V malých dávkách však našly široké uplatnění jako léčiva.

Významnou skupinou jsou isochinoliny, mezi které patří např. morfin a jeho deriváty kodein, heroin a další opiáty. Morfin se získává z vysušené šťávy nezralých makovic jako surové opium, které se dále zpracovává. Opiáty mají tlumivé účinky a našly široké uplatnění jako tišící prostředky (zejména morfium a kodein), avšak jsou také hojně zneužívány k výrobě narkotik, především heroinu, jehož produkce převážně pochází z jihovýchodní Asie. V ČR je produkce makoviny přímo regulována zákonem o držení omamných a psychotropních látek. Dalším zástupcem této skupiny je tubokurarin, účinná složka jedu kurare, který je používán amazonskými indiány k lovu zvířet. Kurare je směs extraktů mnoha rostlin a jeho výroba byla po dlouhá léta tajemstvím. Hlavní složkou je extrakt z liány *Chododendron tomentosum*. Je to účinné myorelaxans, které již v nepatrných dávkách vyvolá ochrnutí svalstva. Působí jako antagonist nikotinových receptorů, což způsobuje zablokování přenosu signálu z nervových zakončení na svalové receptory a oběť zemře udušením. O vysvětlení tohoto jevu se zasloužil Claude Bernard r. 1850. Přesný mechanismus však není dodnes znám. Toxický účinek se vztahuje jen na intravenózní nebo intramuskulární aplikaci a způsobuje pouze svalové ochrnutí. Pokud je oběť udržována na umělém dýchání po vyloučení jedu přežije naprosto bez následků. To prokázal r. 1812 Charles Waterton svým pokusem s oslem. Po velkých obtížích se podařilo tubokurarin izolovat a použít při terapii např. spastické paralýzy, Parkinsonovy choroby a roztroušené sklerózy, také pro uvolnění svalů při operacích břišní dutiny a proti křečím při šokových terapiích u pacientů s duševní poruchou. Nutno podotknout, že proti kurare dosud nebyl nalezen protijed, ale od doby, kdy bylo standardizováno, zemřel na jeho účinky pouze jediný běloch.

Typickým zástupcem pyridinových alkaloidů je nikotin. Kromě toho, že je účinnou složkou tabákového kouře, používají se deriváty nikotinu v boji proti škůdcům. Dále sem patří ricinin ze skočce obecného, což je nejsilnější známý rostlinný jed ( $LD_{50}$  pro myš je 6 g/kg).

Do skupiny tropanů patří zejména kokain, získávaný z listů koky, který je v podobě prášku používán jako oblíbené narkotikum se stimulačním účinkem. Téměř veškerá produkce kokainu pochází ze Střední a Jižní Ameriky. Odhaduje se, že podle tržeb je to nejobchodovanější droga na světě. Terapeuticky se používá jako lokální anestetikum. Dále se sem řadí atropin, látka obsažená v bobulích rulíku, blínu a durmanu. Působí na nervy parasympatiku a tím způsobuje relaxaci hladkého svalstva, např. oční duhovky. Skopolamin se používá jako tišící prostředek i proti cestovní nevolnosti.

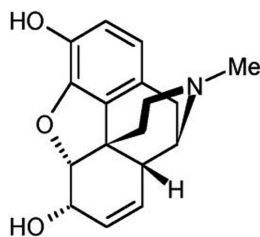
Zřejmě nejslavnějším alkaloidem je chinin, látka povahy indolu. Nachází se v kůře stromu chinovníku, rod *Cinchona*, pojmenovaném r. 1742 Carlem Linné. Tento strom pochází z Jižní Ameriky, kde tamní obyvatelé zřejmě znali účinky jeho kůry proti horečce již před příchodem Španělů, avšak malárie samotná byla na tento kontinent zavedena pravděpodobně z Evropy či Afriky. Původ malárie nebyl dlouho znám. Italské slovo *mall'aria* znamená špatný vzduch; věřilo se, že malárie pochází z jedovatých výparů stojatých vod. Na to, že malárii ve skutečnosti způsobuje krevní parazit *Plasmodium malariae*, přenášený komáry přišel francouzský lékař Alphonse Laveran až roku 1880. Dodnes je malárie velkou hrozbou, neboť se stále objevují nové rezistentní kmeny plasmodií. Světová zdravotnická organizace (WHO) odhaduje, že malárii je ohrožena třetina světové populace a roční úmrtnost dosahuje 2 miliony lidí. Kůra chinovníku byla do Evropy dovezena již kolem r. 1645 jezuiti a její účinky propagoval kardinál de Lugo, jehož z malárie vyléčila. Po masivní propagaci jezuiti se chinovníková kůra stala prvním hromadně používaným lékem, který podryl dosud neotřesitelnou víru v Galénovo učení, jež přikazovalo nemocným horečkou pouštět žilou. Díky tomu dostal lék název jezuitský prášek. Ironií je, že právě toto pojmenování stálo život lorda Olivera Cromwella, ochránce protestantské víry, který zemřel na malárii. O masivní rozšíření se postaral až Robert Talbot ve druhé polovině 17. stol. po úspěšném použití kůry u francouzského dvora. Samotný chinin byl však izolován až r. 1820 dvěma francouzskými lékárníky. Do stejné skupiny jako chinin patří i strychnin, což je naopak prudký jed způsobující křečové stavy svalstva. Pochází z jihoamerického stromu kulčiby dávné (*Strychnos nux-vomica*). Zvláštní je, že jako protijed se používá kurare, které naopak křeče uvolňuje. Dalším známým zástupcem indolových alkaloidů je kyselina lysergová, známá spíše ve formě diethylamidu – LSD. Pochází z námelu (*Claviceps purpurea*), který infikuje obilí. LSD je halucinogen, který vyvolává změněné stavy vědomí a vnímání. Proto byl původně používán psychiatry k lepšímu pochopení duševních poruch, a to kuriózním způsobem – lékaři zkoušeli jeho účinky sami na sobě. Dodnes se LSD spolu s dalšími námelovými alkaloidy používá jako léčivo, i když bylo hojně zneužíváno jako narkotikum. LSD objevil r. 1943 dr. Albert Hoffman, který jej také jako první vyzkoušel.

Účinky této látky však byly již dlouho známy mexickým šamanům, kteří používají magické houby (lysohlávky) k náboženským obřadům.

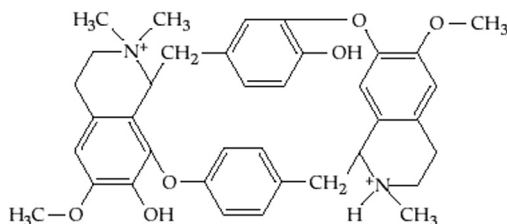
Halucinogenní účinky má též aromatický alkaloid meskalin, pocházející z jihoamerického kaktusu *Lophophora williamsii*, známého již Aztékům.

Mezi alkaloidy také patří deriváty purinu – kofein ze zrnka kávy, listů čaje a kakaových bobů, a také theofylin a theobromin. Povzbuzují činnost nervové soustavy, srdce a ledvin – působí močopudně. Účinky čaje byly již dávno objeveny starými Číňany. První poznatky o kávě pocházejí z arabského poloostrova. Kakao používaly již staré latinskoamerické kultury jako plavidlo.

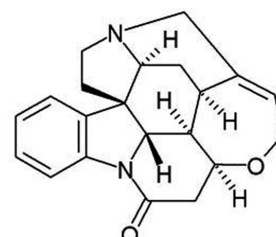
v biomase. Jsou to lipofilní látky, ukládající se v živočišných tukových tkáních a v rostlinách fungují zejména jako doplňkové fotoaktivní systémy při fotosyntéze. Jsou relativně odolné proti většině chemických procesů vyjma oxidace. Pro savce mají neobyčejný význam v tom, že všechny sloučeniny z této skupiny jsou provitamíny A. Nejrozšířenější je  $\beta$ -karoten (70%) a jeho oxidační produkty. Je obsažen např. v mrkvi, meruňkách a broskvích. Dalším je červené barvivo rajčat lykopen, u kterého se prokázaly protinádorové preventivní účinky. Významné oxidační produkty karotenoidů jsou xanthofyly, např. lutein, kryptoxanthin, fucoxanthin a další.



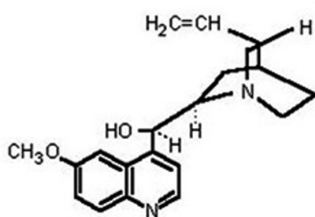
Morfin



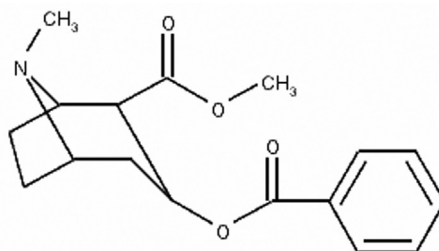
D-Tubokurarin



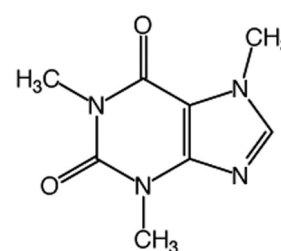
Strychnin



Chinin



Kokain



Kofein

### Rostlinná barviva

Toto je také velmi početná skupina sekundárních látek, i když strukturně a funkčně zdaleka ne tak různorodá jako alkaloidy.

Látky obsahující typický tricyklický flavanový skelet nazýváme flavonoidy. Ty se dále dělí podle různého stupně oxidace pyranového kruhu a substituce celého skeletu. Často se v rostlinách vyskytují ve formě glykosidů, či jiných konjugátů. Do této třídy látek patří mj. flavony, flavanoly a anthokyany. Jsou to všechno barviva zodpovědná například za červenou barvu podzimních listů, či květů. Zástupcem poslední jmenované skupiny je např. glykosid enin, který je barvivem evropských červených vín a je zodpovědný za tzv. francouzský paradox. Jedná se o zjištění, že Francouzi, ačkoliv mají poměrně nezdravé stravovací návyky, mají relativně nízkou incidenci kardiovaskulárních a nádorových onemocnění, neboť flavonoidy mají antioxidační účinky a ve Francii je nejvyšší spotřeba červeného vína na světě. Prekurzorem těchto látek je fenylalanin.

Důležitými barvivy jsou karotenoidy. Jsou to necyclecké tetraterpeny, tedy nenasycené látky syntetizované ze čtyř isoprenoidních jednotek. Jsou to jedny z nejrozšířenějších látek na Zemi; na obrovské množství v biosféře připadá relativně malé hmotnostní procento

Zřejmě nejvýznamnější rostlinné barvivo – chlorofyl je látka povahy pyrrolu. Tvoří jej čtyři pyrrolová jádra s koordinančně vázaným iontem  $Mg^{2+}$ . O úloze chlorofylu v rostlinách se není třeba zmiňovat, představuje však látku, jejíž objem degradace je každoročně největší na světě; odhaduje se asi  $10^9$  tun. Za první degradační kroky jsou odpovědné enzymy chlorofylasa a magnesium dechelataza, jejichž produkty jsou olivově hnědá barviva feofytin a feoforbid. Toto jsou klíčové stupně při senescenci rostlinného materiálu, kterou, jak bude dále uvedeno, spouští rostlinné hormony.

### Aromatické sloučeniny

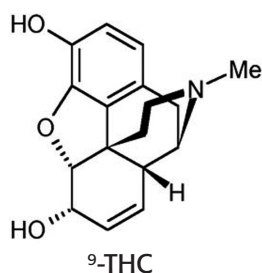
Do této poměrně uniformní třídy patří látky povahy různě oxidovaných a substituovaných fenolů a chinonů včetně kondenzovaných struktur a konjugátů.

Můžeme zde zmínit např. guajakol, pyrokatechol, kyselinu skořicovou, salicylovou (výroba aspirinu, působí také jako rostlinný hormon, zvyšující teplotu aktivací respiračních drah), aromatickou látku vanilin, nebo kyselinu benzoovou, používanou ke konzervaci potravin. Řadí se sem i  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinoly jako narkotika z konopí (*Cannabis sativa*).

Kondenzované polyfenoly jsou např. taniny, které se používají v kožedělném průmyslu. Jsou také známé

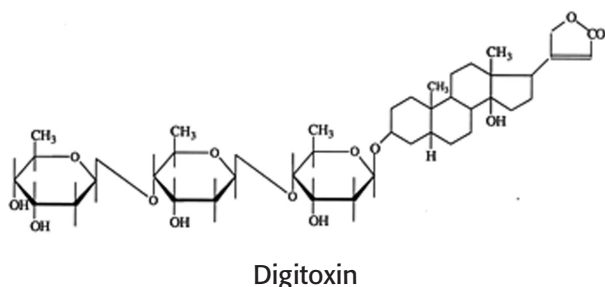
jako třísloviny a jsou to sensoricky významné látky, vynikající svou trpkou chutí, zejména v kávě, čaji, kakau a víně.

Lignin, je statistický polymer o relativní mol. hmotnosti přes 10 000 s přesně nedefinovatelnou strukturou. Je přítomen jako výtuž v buněčné stěně dřevin. Je velmi chemicky odolný a jeho degradaci jsou schopné uskutečnit pouze peroxidasy saprofytických hub. Lignin je hlavní odpad papírenského a dřevozpracujícího průmyslu, proto se upírá pozornost na jeho další zpracování. Předpokládanými meziproducty syntézy ligninu jsou dimerní lignany. Jejich schopnost inhibovat syntézu nukleových kyselin je zřejmě zdrojem jejich protirakovinných a antivirových účinků. Můžeme jmenovat např. žluté barvivo kurkumin, pocházející z kořene kurkumy, který se používá i jako koření.



### Glykosidy

Jsou to konjugáty látek (aglykonů) se sacharidovým zbytkem. Jako aglykony mohou vystupovat některé výše zmíněné sloučeniny. Sacharidem v těchto případech bývá hlavně glukosa, rhamnosa a xylosa. Mnohé glykosidy jsou látky sensoricky významné, jako amygdalin, způsobující hořkou chuť jader peckovic a patřící mezi kyanogenní glykosidy. Některé aglykony jsou k sacharidu vázány S-glykosidovou vazbou, jsou to thioglykosidy, neboli glukosinoláty. Jejich zástupci sinigrin a sinalbin vyvolávají palčivou chuť a vůni semen hořčice a jsou to rostlinná antibiotika. Významnou skupinu tvoří glykosidy steroidů, zejména saponiny a kardenolidy. Saponiny jsou surfaktanty s účinky podobnými mýdla a jsou to jedy; způsobují hemolýzu. Kardenolidy, nebo také srdeční glykosidy, našly široké terapeutické uplatnění. Jejich nejznámější zástupci jsou glykosidy z náprstníku (rod *Digitalis*) – digitoxin, digoxin a gitoxin. Mají široké spektrum účinků, zejména zvyšují kontraktilitu myokardu, nepropustnost membrán svalových buněk, nebo odvodnění, avšak přesný mechanismus dosud není znám. Podávají se při srdeční arytmii, svalové dystrofii i k léčbě glaukomu, jelikož snižují nitrooční tlak. O zavedení digitalis do medicíny se zasloužil anglický lékař William Withering r. 1776.



### Éterické oleje a pryskyřice

Tuto skupinu tvoří vesměs látky sensoricky významné, často těkavé a nerozpustné ve vodě. Jako oleje označujeme kapalné směsi látek, zejména alifatických a cyklických monoterpenů a jejich alkoholů a aldehydů. Mnohdy se jim říká silice, protože způsobují charakteristická rostlinná aromata: citral v pomerančích, limonen v citronu a kopru, linalool v koriandru a např. i tuhý kafr.

Pryskyřice jsou ztuhlé rostlinné výměšky, často i fosilní (jantar). Jsou to opět povahou isoprenoidy a hlavní složky tvoří pryskyřičné kyseliny abietová a levopimarová. Radíme sem také kaučuk, což je vysokomolekulární polymer nesmírného průmyslového významu, který je tvořen 500 až 5000 isoprenovými jednotkami. Schopnost tvořit kaučuk má početná skupina rostlin, avšak v dostatečném množství pouze strom kaučukovník brazilský. Kratší kongener kaučuku je gutaperča, tvořený i *cis* dvojnými vazbami.

### Rostlinné hormony

Tyto látky mají v poslední době nesmírný význam, neboť pochopení jejich funkce vede k řízení metabolických pochodů v rostlině a potažmo ke kontrole zemědělské výroby i k regulaci dějů v uskladněných produktech. Mnohé se také používají jako herbicidy. Právem jsou nazývány hormony, neboť mechanismus jejich účinků je stejný jako u sloučenin živočišného původu.

Auxiny mají stimulační efekt podporující dlouhivý růst meristematického pletiva. Jejich účinek také spočívá v indukci tvorby ethylenu (viz dále). Jsou to deriváty indolu a typickým zástupcem je indolyloctová kyselina.

Stimulačně působí také gibbereliny; hormony povahy diterpenů. Podporují intenzivní růst, klíčení semen, kvetení a mobilizaci zásobních látek. Působí synchronně se světelnou periodou.

Cytokininy jsou substituované deriváty adeninu, např. zeatin nebo isopentenyladenin. Podporují hojení a tvorbu ochranných pletiv; také zpomalují stárnutí.

Ethylen způsobuje zastavení dlouhivého růstu a naopak tloustnutí stonku, urychluje také zrání plodů, nebo stárnutí listů a květů. Používá se ke kontrole dozrávání tropického ovoce ve velkoskladech. Je syntetizován membránovým enzymem EFE (ethylene forming enzyme). Jeho produkce výrazně stoupne při mechanickém stresu nebo účinkem auxinů.

Stresový hormon je též kyselina abscisová, která vyvolává reakce chránící rostlinu před jednotlivými druhy stresu (osmotický, teplotní atd.) Má další tlumivé účinky jako tvorbu zásobních látek, zabránění předčasnému klíčení nebo zahájení embryogeneze. Je to sekviterpen tvořený skeletem z patnácti uhlíků.

### Fytoalexiny

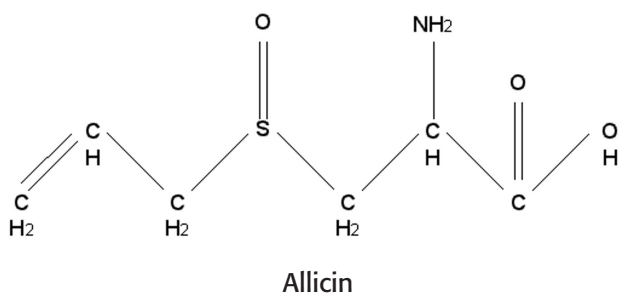
Jsou označovány jako rostlinná antibiotika a jsou to látky chránící rostlinu před patogeny. V rostlinách plní funkci imunitního systému a produkce některých fytoalexinů může stoupnout po vnějším stimulu.

Na rozdíl od imunitního systému živočichů však postrádají specifitu. Zajímavé je, že určitá čeleď rostlin používá vždy strukturně identické látky.

Velmi známou sloučeninou je allicin, což je allylester allylthiosulfonové kyseliny s charakteristickou vůní česneku. Flavonoidní strukturu mají fungicidy pisatin a faseolin. Jehličnany při napadení kůrovcem syntetizují pinosylvin a chloroforin způsobuje odolnost proti plísni u tropických dřevin. O glykosinolatech je pojednáno výše. Mnohé látky této skupiny jsou opět sensoricky významné, například tzv. hořké chmelové látky humulon a lupulon.

Zvláštní skupinu obranných látek tvoří lektiny. Jsou to bílkoviny s afinitou ke specifickým sacharidovým strukturám a mají schopnost je srážet. V tom se nejvíce podobají živočišným imunoglobulinům. Kromě obranných funkcí jsou využívány rostlinami i jako receptory, právě pro jejich specifitu. Schopnost tvořit lektiny mají i mikroorganismy a živočichové.

Velmi důmyslnou formou obrany rostlin před požerem hmyzem, je indukce těkavé látky, která představuje feromon, tedy atraktant, pro cizopasný hmyz napadající právě hmyzí druhy způsobující škody na rostlině.



### Průmyslové využití a produkce sekundárních látek

Příklady použití jednotlivých látek jsou uvedeny výše. Je zřejmé, že podstatná část z nich jsou pro nás dnes již nepostradatelné a to zejména farmaka, či látky, které se nedají vyrobit synteticky.

Naproti tomu primární úsilí nejprve směřovalo ke kompletní organické syntéze sekundárních metabolitů z ropných látek, což v některých případech téměř zcela nahradilo původní produkci (např. syntetický kaučuk). Pokud je tato syntéza ekonomicky únosná, nebo pokud jsou primární přírodní suroviny příliš drahé, či vzácné, používá se dodnes.

Jiný přístup spočívá v dokončení několika posledních syntetických kroků, přičemž surovinou je prekurzor, získávaný z přírodního materiálu. Výhodou zde bývá lepší dostupnost a obecně nižší cena surovin. Příkladem je syntéza vanilínu z fenolických látek ve dřevě.

V poslední době se při produkci sekundárních látek významně uplatňuje genové inženýrství. Jedná se o zvýšenou expresi genů přímo zodpovědných za syntetickou dráhu, nebo řízení regulačních genů stimulací nebo naopak vyřazením. První pokusy byly prováděny s flavonoidy a anthokyaniny petúnií neboť míra jejich produkce byla vidět na sytosti zabarvení květů. V potravinářském průmyslu mají tyto manipulace význam kvůli antioxidantním účinkům flavonoidů, např.

v rajčatech. Tento postup se však provádí u všech skupin, zejména alkaloidů (morfin), terpenů (esenciální oleje máty, karotenoidy) nebo glykosidů (digitoxin). Významnou oblastí je též transformace rostlinných buněk cizími geny. Pro tento účel se používá biotransformace pomocí bakterie *Agrobacterium tumefaciens* přenášející do rostliny upravené plasmidy. Uplatňují se i balistické, elektroporační a jiné metody.

Jakkoliv upravená, zemědělská produkce rostlin je vždy limitována a pro některé průmyslové účely je kvantitativně i kvalitativně nepostačující. Proto byly vyvinuty postupy pro kultivaci rostlinných buněk ve tkáňových kulturách. Nejprve je nutné odebrat explantát z rostliny (odříznutí kousku pletiva). Za tímto účelem se sterilně pěstují malé rostlinky ze semen upravených povrchovou sterilací. Po přenesení explantátu na živné médium ztužené agarosem se na řezu tvoří hojivé pletivo kalus, který je schopen samostatného růstu a dělení na kompletním médiu, často s přidáním růstových hormonů. Pěstování kalusu je náročné, neboť rostlinné tkáňové kultury jsou málo odolné a rostou velmi pomalu (generační doba v řádu stovek hodin), a proto je třeba dbát na sterilitu a kultury relativně často pasážovat. Pokud je kalus měkký, je výhodné převést jej na tzv. suspenzní kulturu, která se pěstuje v kapalném médiu a buňky jsou zde rozptýlené ve formě drobných agregátů. Pro „scale – up“ (převedení produkce do provozního měřítka) je vytvoření suspenzní kultury nezbytné. První zkušenosti s tím získali v 80. letech Japonci při produkci šikoninu a v SSSR se tímto způsobem pěstoval žen-šen. Suspenzní kultury ve velkém měřítku jsou opět velmi choulostivé, což si vyžádalo konstrukci mnoha speciálních typů bioreaktorů. Jedná se především o dokonalou sterilitu, aeraci a šetrné míchání.

### Závěr

Rostlinné sekundární metabolity jsou velmi důležitou skupinou látek. Rozmanitost jejich struktury a funkce nám velmi ztěžuje chápání a výzkum jejich působení v rostlinách i v živočišném organismu. Pro mnoho z nich jsme našli využití v různých průmyslových odvětvích.

### Literatura

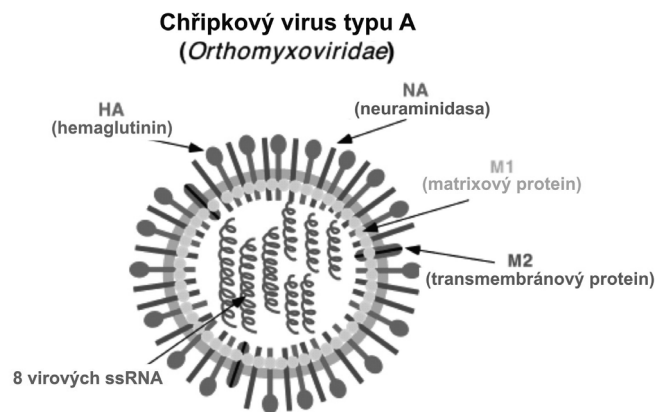
- Hadacek, F.: Crit. Rev. Plant Sci. 21, 273, (2002).
- Verpoorte, R., Memelink, J.: Curr. Opin. Biotech., 13, 181, (2002).
- Zhao, J., Davis, L. C., Verpoorte, R.: Biotech. Adv. 23, 283 (2005).
- Ramachandra Rao, S., Ravishankar, G. A.: Biotech. Adv. 20, 101 (2002).
- Singer, A. C., Crowley, D. E., Thompson, I. P.: Trends Biotech. 21, 123 (2003).
- Vodrážka, Z.: Biochemie, skripta díl 3, Academia (1999).
- Kreigová, M. B.: Zelená medicína, Orbis (1970).
- Frančová, K., Macek, T., Demnerová, K., Macková, M.: Chem. Listy 95, 630 (2001).
- Thakur, G. A., Duclos, R. I., jr., Makriyannis, A.: Life Sci. 78, 454 (2005).

# CHŘIPKA A SOUČASNÉ PŘÍSTUPY K JEJÍ LÉČBĚ

Lucie Dvořáková

Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha

Chřipka je vysoce nakažlivé infekční onemocnění charakteristické náhlým začátkem. Projevuje se horečkou, bolestmi kloubů, svalů, hlavy a poškozením dýchacích cest. Inkubační doba chřipky je 1 – 3 dny. V těchto dnech je nakažený člověk zatím bez klinických příznaků onemocnění, je však již zdrojem další infekce. Ta se šíří kapénkovým přenosem a nebo nepřímo – předměty kontaminovanými sekrety nemocných osob. Nekomplikované onemocnění trvá asi týden. Únavový stav po chřipce však může přetrvávat ještě řadu dní i týdnů. Nejčastější komplikací chřipky je druhotná bakteriální infekce (pneumonie způsobená bakteriemi *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus pneumoniae*), která může mít závažné důsledky především u osob s poruchou imunity, u chronicky nemocných lidí, těhotných žen, malých dětí a seniorů.



Chřipkové onemocnění způsobují viry rodu *Influenza viridae* z čeledi *Orthomyxoviridae*. Po světě kolují tři typy viru chřipky, a to virus typu A, B a C. V lidské i zvířecí populaci se nejlépe šíří typ A. Typy B a C jsou infekční pouze pro člověka a virus typu C vyvolává pouze lehké infekce horních cest dýchacích a postihuje především děti. Genom viru je rozdělen do osmi segmentů (v případě viru typu C do sedmi) z nichž každý obsahuje jeden gen. Dva z těchto segmentů obsahují geny pro povrchové proteiny, podle kterých se virus chřipky A dělí ještě na jednotlivé subtypy. Jedním z těchto proteinů je hemagglutinin (H), u kterého je v případě viru A známo 16 hlavních subtypů. Hemagglutinin hraje roli při napadení buňky: Váže se na receptory buněčné membrány a umožňuje vstup viru do buňky. Druhým důležitým proteinem je neuraminidasa (N), u které je známo v případě viru A 9 hlavních subtypů. Neuraminidasa je enzym, který po skončení množení viru v buňce rozrušuje vazbu hemagglutininu k receptoru napadené buňky, a tak umožňuje uvolnění virových partikulí z povrchu buňky. Tím jak virus obíhá

kolem zeměkoule dochází k menším změnám subtypů díky mutacím a tyto změny se označují jako **antigenní drift** (posun). To pak způsobuje, že je možné opakovaně onemocnět infekcí daným subtypem viru. Driftové změny se vyskytují i u viru typu B a způsobují každoroční epidemie. Segmentovaný genom ale umožňuje virům od jiného druhu se navzájem smíchat a vytvořit nový chřipkový virus typu A, pokud viry ze dvou různých druhů infikují stejnou osobu nebo zvíře. Tento typ větší změny u chřipkových virů typu A je znám jako **antigenní shift** neboli (zlom) (tj. změna antigenní struktury). V takovém případě může dojít až ke vzniku pandemie.

K nejstrašnějším zdokumentovaným pandemiím patřila takzvaná Španělská chřipka (virus typu A, subtyp H1N1) v letech 1918-1920, při které onemocnělo 500 milionů lidí a zemřelo jich 50 milionů. V letech 1957-1958 vypukla epidemie Asijské chřipky (typ A, subtyp H2N2), které podleho 1,5 milionu osob a v případě Hongkongské chřipky (1968, typ A, H3N2) to byl přibližně 1 milion. V této době zemře každý rok na onemocnění chřipkou přibližně půlmilionu lidí.

Od 20. století cirkulují v lidské populaci viry chřipky A, které mají povrchové znaky H1, H2 nebo H3 a N1 nebo N2. V současné době jde o subtypy H1N1 a H3N2. Chřipka H5N1 je nazývána ptačí chřipkou, protože přirozeným hostitelem tohoto subtypu viru jsou ptáci a tento virus obvykle člověka nenapadá. Poprvé se tento subtyp objevil u ptáků v roce 1961 v jižní Africe. Mezi ptáky je velmi nakažlivý a může je dokonce zabít. V roce 1997 byl zaznamenán první případ lidského onemocnění tímto virem v Hongkongu. Od té doby bylo hlášeno celkem 117 infikovaných osob virem H5N1. Dosud však nebyl jednoznačně prokázán přenos tohoto onemocnění z člověka na člověka. Z důvodů velmi snadné adaptability (tj. mutace) viru se předpokládá, že by mohlo dojít ke změně tak, aby se šířil z člověka na člověka. Protože taková forma ptačího viru zatím neexistuje, předpokládá se, že stávající imunitní ochrana v populaci lidí je buď nízká nebo žádná. Proto také pokud došlo k nakažení lidí, bylo procento zemřelých relativně vysoké (ze 117 nakažených zemřelo 60 osob).

## Prevence a léčba chřipky

V praxi se běžně používá prevence a symptomatická léčba. U nekomplikovaného průběhu je velmi důležité zachovávat klidový režim na lůžku, který může významně přispět k rychlejšímu a úspěšnému zvládnutí choroby. Při bolestech hlavy a svalů se používají analgetika, z léčiv snižujících teplotu (antipyretika) se nejvíce používají kyselina acetylsalicylová (*Aspirin*, *Acylpyrin*),

paracetamol (*Paralen, Coldrex, Ataralgin*) a ibuprofen (*Ibuprofen, Brufen, Nurofen*), antitusika se používají při dráždivém kašli. Důležitý je dostatek vitaminů (zejména vitamin C) a dostatek tekutin. Při chřipce někdy lékaři používají i antibiotika. Ta samotnou chřipku neléčí, ale jsou použitelná na zánětlivé komplikace, vyvolané nejčastěji druhotnou bakteriální infekcí.

Jelikož původcem chřipky je virus, jsou možnosti léčby velmi omezené. Existují však látky (antivirotika), které působí přímo na virus a zabraňují jeho množení podobně jako u bakterií antibiotika. Ovšem pro svoji malou účinnost a velké množství nežádoucích účinků se k léčbě chřipky běžně nepoužívají. Na trhu se vyskytují čtyři druhy látek, které se považují za antivirotika. Je jím amantadin, rimantadin, zanamivir a oseltamivir. **Amantadin** inhibuje tvoření viru v buňce (konkrétně brání uvolnění nukleokapsidy do cytoplasmy) a je účinný pouze pro chřipku typu A, ale některé subtypy jsou k němu rezistentní. Mechanismus působení amantadinu není doposud znám. Tato látka je prodávána pod názvem Symmetrel a mohou ho užívat dospělí a děti nad 1 rok. Jeho podání během prvních 24 hodin po začátku obtíží snižuje závažnost i trvání nemoci. U nás se užívání amantadinu nikdy nevžilo (přestože je na trhu registrován jako antiparkinsonikum), a to z důvodů častých vedlejších účinků, kterými jsou například neschopnost spánku a bezmyšlenkovitost. **Rimantadin** je látka podobná amantadinu, ale má méně vedlejších účinků. Na trhu se vyskytuje pod názvem Flumadin, ale u nás není ani registrován. K léčbě a profylaxi chřipky A i B lze použít i antivirotikum **zanamivir** nebo **oseltamivir**. Obě tyto látky fungují jako inhibitory enzymu neuraminidasy a protože je tento enzym nezbytný pro uvolnění virových částic z povrchu buněk, je znemožněno šíření viru v organismu. Tato nová virostatika jsou bezpečná, dobře tolerovaná, zkracují dobu trvání teplot u nekomplikované infekce a mírní doprovodné příznaky, zkracují vylučování viru, přičemž nenarušují protilátkovou odpověď na vakcínu proti chřipce. Aby byl zajištěn jejich účinek, je třeba léčbu zahájit včas, tj. nejlépe do 36-48 hodin. Tyto léky je vhodné aplikovat jednak u rizikových skupin očkováných pacientů, pokud od očkování uplynula příliš krátká doba, která nestačí k navození ochranných mechanismů a hrozí-li riziko vzniku infekce, tak i u lidí, kteří si z důvodu například těžké poruchy imunity nedokáží protilátky vytvořit. Specifickou skupinou jsou ohrožené osoby, u nichž je očkování kontraindikováno. Těmto lidem lze předepsat zanamivir nebo oseltamivir s částečnou úhradou. V ostatních případech je u nás specifická virostatická terapie možná, ale plně ji hradí pacient. Zanamivir je prodáván pod názvem RELENZA a oseltamivir jako TAMIFLU. Zanamivir není vhodný pro perorální aplikaci (jeho biologická dostupnost je přitom nízká a vylučování ledvinami rychlé). Je třeba ho aplikovat lokálně, tj. intranazálně nebo inhalačně. Proto je přípravek RELENZA určen k inhalaci a jeho cena se pohybuje kolem 800 korun a TAMIFLU se podává

v tabletách. Provedené studie naznačují, že tyto léky schválené pro léčbu tradiční lidské chřipky by měly být dostatečně účinné i při léčbě lidské formy ptačí chřipky. Přesto je důležité upozornit, že může dojít k rezistenci těchto virů na daná antivirotika, a tím se jejich účinnost sníží nebo se stanou neúčinné.

Optimálním způsobem, jak zabránit přenosu chřipkových virů, je prevence. Nejlepší prevencí je aktivní imunizace nebo-li očkování. Vychází ze známé skutečnosti, že infekce virem chřipky vede ke vzniku ochranných protilátek. Hlavními antigeny proti kterým se protilátky tvoří a které jsou imunitním systémem rozpoznávány jsou hemagglutinin a neuraminidasa. Otázka očkování je ale problematická, protože virus se každý rok trochu mění a zásadně při pandemii. Čím více lidí však bude očkováno proti chřipce, tím více se sníží šance na vznik pandemické varianty chřipkového viru (nebude mít kde zmutovat). Vakcína proti chřipce se vyrábí pomocí kuřecích embryí a zatím jí nelze vyrábět na tkáňových kulturách. Výroba proto trvá déle a vyrobené vakcíny je málo. V roce 1947 založila Světová zdravotnická organizace (WHO) světoznámý systém na monitorování změn, které se týkají viru chřipky. Do WHO patří 100 zdravotnických chřipkových center, které pravidelně odevzdávají nově izolované viry do 4 hlavních spolupracujících centrál (jedna je v Londýně, druhá v Atlantě, třetí v Parkville v Austrálii a čtvrtá je v Tokiu) k analýze. To vede ke zjištění nového a potenciálně nebezpečného druhu viru ještě než se stihne rychle rozšířit a v nejhorším případě vyvolat pandemii. Vzhledem k tomu, že dochází ke genetické mutaci obou typů, producenti vakcín připravují očkovací látky z výrobních druhů virů chřipky podobných či totožných s druhy každoročně vyhlášenými WHO, které se geograficky odlišují. Očkovací látky obvykle obsahují tři základní typy viru, a to typ A (H1N1), typ A (H3N2) a typ B.

Dnešní vakcíny se vyrábějí buď jako splitové nebo subjednotkové. Vakcíny s obsahem celých inaktivovaných virových částic se u nás již nepoužívají, neboť vyvolávaly vysoké procento nežádoucích účinků. **Splitové vakcíny** jsou složené z inaktivovaných a rozštěpených virů chřipky, **subjednotkové** obsahují pouze neuraminidasu a hemagglutinin, které jsou vysoce antigenní. Na našem trhu jsou dostupné následující vakcíny:

- Agrippal S1 (subjednotková)
- Begrivac (splitová)
- Fluarix (splitová)
- Influvac (subjednotková)
- Vaxigrip (splitová)
- Fluad

Vakcína proti chřipce je určena pro aktivní imunizaci dětí starších 6 měsíců a dospělých osob, zejména osob starších 60-65 let. Očkování se provádí v období před předpokládaným výskytem, a to od září do poloviny prosince. Po aplikaci očkovací látky je dosaženo vze-

stupu hladin ochranných protilátek obvykle během dvou až tří týdnů. Trvání postvakcinační imunity je různé, avšak obvykle se pohybuje od 6 do 12 měsíců, proto se musí očkování každý rok opakovat. Stejně jako u všech přípravků biologické povahy nelze vyloučit projev přecitlivělosti vůči některé ze složek vakcíny, a proto je třeba mít při očkování k dispozici adrenalin v ředění 1:1000 nebo kortikosteroidy pro snížení projevů těchto reakcí vzniklých bezprostředně po očkování. Z tohoto důvodu by měla být očkovaná osoba pod dohledem lékaře třicet minut po aplikaci vakcíny.

Proti chřipce se lze také bránit zvýšeným užíváním vitamínu C. V období epidemie je nutno izolovat nemocné, omezit shromažďování v uzavřených prostorech (školy, kina, divadla), případně uvážit zákaz návštěv v lůžkových zdravotnických zařízeních a v ústavech sociální péče.

**Přehled doporučených druhů virů chřipky pro výrobu vakcín v letech 1999-2006**

Rok	Antigeny		
	Typ A (H1N1)	Typ A (H3N2)	Typ B
1999-2000	A/Beijing/262/95	A/Sydney/05/97	B/Beijing/184/93
2000-2001	A/NewCaledonia/20/99	A/Panama/2007/	B/Yamanashi/166/9
2001-2002	A/NewCaledonia/20/99	A/Moscow/10/99	B/Sichuan/379/99
2002-2003	A/NewCaledonia/20/99	A/Moscow/10/99	B/HongKong/330/01
2003-2004	A/NewCaledonia/20/99	A/Fijian/411/2002	B/Shanghai/361/2002
2004-2005	A/NewCaledonia/20/99	A/Fijian/411/2002	B/Shanghai/361/2002
2005-2006	A/NewCaledonia/20/99	A/Kalifornia/7/2004	B/Shanghai/361/2002

#### Literatura

- Influenza – Wikipedia, the free encyclopedia, <http://en.wikipedia.org/wiki/influenza>, (14. 11. 2005)
- <http://www.astdhppe.org/infect/flu.html>, (29. 11. 2005)
- Influenza information, <http://www.influenzacentre.org/fluinfo.htm>, (24. 11. 2005)
- <http://virology-online.com/viruses/influenza.htm>, (2. 12. 2005)
- ptačí chřipka, <http://www.studiohedis.cz/view.php?cislo-clanku=2005102801>, (30. 11. 2005)
- Influenza, <http://web.uct.ac.za/depts/mmi/jmoodie/influen2.html>, (2. 12. 2005)
- <http://necos.webzdarma.cz/studie.htm>, (1. 12. 2005)
- Vakciny a očkování, <http://www.safebryo.cz/vakciny.htm>, (2. 12. 2005)
- <http://www.zupu.cz/index.php?pid=214>, (1. 12. 2005)
- <http://www.olympia-nejdek.cz/chripka-php>, (14. 11. 2005)
- Očkování proti chřipce, [http://www.vakciny.net/doporucene\\_ockovani/chripka.html](http://www.vakciny.net/doporucene_ockovani/chripka.html), (14. 11. 2005)
- [http://www.zdrava-rodina.cz/med/med299/med299\\_40.html](http://www.zdrava-rodina.cz/med/med299/med299_40.html), (14. 11. 2005)
- <http://www.fda.gov/cber/flu/flu.htm>, (24. 11. 2005)
- [http://www.gurudiksha.com/how\\_flu\\_treaded.asp](http://www.gurudiksha.com/how_flu_treaded.asp)

# TRANSGENNÍ ŽIVOČICHOVÉ

Irena Voráčková

Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha

Nový rozvoj biotechnologií dává možnost modifikovat genetickou informaci rostlin, mikroorganismů, ale i zvířat. Právě genové modifikace živočichů otevřely cestu k produkci hospodářských zvířat s novými, lepšími vlastnostmi. Nabízí se mnoho možností, jak je využít. Pomocí transgenních živočichů lze vyrábět některé látky levněji než v bakteriích, můžeme získávat zvířata odolnější vůči chorobám, máme možnost vyrábět nové druhy potravin či různým způsobem zvířata využívat k léčení lidských nemocí. Bohužel vědci nejsou tak daleko s vývojem geneticky modifikovaných živočichů, jako je tomu u rostlin nebo bakterií. Je také smutné, že i když je připraven nějaký transgenní živočich s lepšími vlastnostmi, u veřejnosti se to neseťká s velkým ohlasem. Je však nutno dodat, že transgenní živočichové mají svojí budoucnost a proto má cenu o nich napsat pár řádek.

## Jak zvíře modifikovat?

Genové modifikace živočichů lze provádět několika způsoby. Je možné vpravit do živého organismu cizí gen nebo naopak zablokovat jeho vlastní. Lze také vlastní gen zvířete přeměrovat do jiné části těla, takže gen není tělu cizí, ale funguje v části těla, ve které se normálně nepřepisuje. Existuje mnoho metod, jak zasahovat do genetické informace živočichů. Je to například mikroinjekce, přenos genu pomocí retrovirových vektorů, přenos jader (klonování), využití embryonálních kmenových buněk, přímá injekce do tkání a řada dalších metod.

Přímočarý způsob obohacení genetické informace živočicha je mikroinjekce. Jedná se o injekci genu do raného zárodku. Při této technice je pomocí skleněné kapiláry vpraven gen do jednobuněčného zárodku a následně je zárodek přenesen do těla náhradní matky, kde se má vyvinout v životaschopného jedince. Je to metoda velice náročná jak na zkušenosti operátora, tak na vybavení laboratoře. Navíc je zapotřebí velké množství zárodků, neboť účinnost metody dosahuje nejvýše několika procent. Úspěchů se touto metodou dosahuje hlavně u myši, u hospodářských zvířat je situace složitější, neboť není snadné získat tolik embryí.

Stejná účinnost jako u mikroinjekce je dosahována i u další metody, a to u přenosu genů pomocí retrovirových vektorů. Využívá se přirozené vlastnosti retrovirů inkorporovat svoji dědičnou informaci do genomu hostitelské buňky. Aby se v těle zvířat netvořily infekční částice viru a zároveň byl inkorporován požadovaný gen do zvířecího genomu je možné vyjmout genetickou informaci viru a nahradit jí cizím genem. Virus tím neztratí schopnost začlenit nový gen a zároveň není pro zvíře nebezpečný. Bohužel má tato metoda ještě

omezení ve velikosti přenášeného genu, který obvykle není větší než 10 kilobází. Kromě retrovirů se dají použít i jiné skupiny virů, např. adenoviry, které ovšem mohou vyvolat u příjemce silnou imunitní odpověď.

V poslední době se při produkci transgenních živočichů, hlavně savců, nejvíce prosadila metoda přenosu jader, neboli klonování. Principem je vpravení jádra buňky do vajíčka, které je zbaveno vlastní genetické informace. Tak vznikne zárodek, který se vyvine v dospělého jedince a je totožný s dárcem buňky. Výhoda této metody je v možnosti klonovat nejrůznější typy buněk, jako buňky embryí, plodů a také buňky odebrané z těla dospělých jedinců. Úspěšnost této metody je ve srovnání s předchozími mnohem větší, neboť úspěšnost klonování se pohybuje okolo 10 %. Navíc je jisté, že pokud se vyvine jedinec, je určitě transgenní, kdežto u mikroinjekce nebo u retrovirových vektorů nemusí dojít k úspěšnému začlenění genového konstruktů do genomu hostitelské buňky. Klonování již bylo úspěšně zvládnuto u skotu, koní, prasete, myši, králíků atd.

Další metodou používanou hlavně k vyřazení („knock-out“) určitého genu je použití embryonálních kmenových buněk. Ty se získávají z raných stádií savčích embryí, jsou schopny se neustále množit a mohou vytvořit jakoukoli tkáň těla. Metoda spočívá v tom, že embryonální kmenové buňky vneseme do cizích zárodků za vzniku chiméry. Tělo takto vzniklé chiméry je vlastně tvořeno buňkami ze dvou různých jedinců. Jinými slovy chiméra nese v některých částech těla cizí gen. V případě vyřazení určitého genu je tento gen odstraněn již u embryonálních kmenových buněk a tudíž se tato změna přenesení i do chiméry.

Účinnost přenosu genu také záleží na druhu modifikovaného zvířete. Jiné postupy je nutno volit u savců, a jiné např. u ptáků či ryb. U každého druhu se rovněž setkáváme s problémy specifickými pro daný druh. U savců, jak již bylo řečeno, je nejúčinnější metodou klonování. Nejčastěji jsou produkovány transgenní myši, které slouží hlavně pro laboratorní účely. U ptáků spočívá hlavní problém v tom, že snesené vejce obsahuje zárodek již v pokročilém stadiu vývoje a navíc je uzavřeno několika vrstvami obalů. Jejich porušení má nepříznivý vliv na vývoj zárodku. První úspěch v genové modifikaci drůbeže byl dosažen pomocí retrovirových vektorů. Nyní se ale jeví jako nejlepší metoda přenosu genu pomocí spermií a genového konstruktů za přítomnosti speciální protilátky, která zajistí jejich spojení. U ryb nenastává tolik problémů s přenosem genů, neboť se zde velmi dobře uplatnila mikroinjekční technika. Jikry ryb jsou totiž dostatečně velké a bez vyložení tvrdých obalů. Ovšem první pokusy nevyšly, protože byly použity konstrukty ze savčích genů. Pokud



se použijí konstrukty vyrobené z rybí DNA, tyto problémy odpadají.

### Využití geneticky modifikovaných zvířat

Transgenní živočichové zatím nenalezli tak široké uplatnění jako geneticky modifikované bakterie či rostliny. To ovšem neznamená, že by byli v praxi nepoužitelní, spíše naopak. Transgenní živočichové mohou v praktickém využití i překonat modifikované bakterie. Ty slouží hlavně pro laboratorní účely, kdežto transgenní zvířata se dají využít jak pro výrobu látek, které bakterie nejsou schopné vyrobit, tak jako dárci orgánů pro člověka nebo jako odolnější zvířata v chovech.

Modifikace zvířat vede k určitým cílům jako např. získání zvířat s vyšším růstem, odolným vůči chorobám, k výrobě živočišných produktů s novými vlastnostmi, k získání zvířat vhodných pro xenotransplantace nebo schopných produkovat léčivé látky a v neposlední řadě na výrobu nových surovin transgenními zvířaty. Největšího úspěchu s produkcí transgenních zvířat se zvýšeným růstem se dosáhlo u myši. Transgenní myši vděčí za svoji velikost krysímu růstovému genu, kdy se syntéza krysího hormonu odehrává v játrech a zvíře proto začne neobyčejně růst. Po tomto úspěchu se začalo hovořit o obřích kravách či prasatech. Ovšem stejný systém pro tyto velká domácí zvířata nefunguje. I když byla potvrzena exprese genového konstruktů, zvýšený růst se nedostavil, spíše naopak. Zvířata trpěla různými zdravotními problémy, průjmy, poruchami funkce kloubů, vývinem sekundárních pohlavních znaků samic u samců atd. U ryb se však přenos genu pro růstový hormon setkal s úspěchem. U lososů se navodil zvýšený růst genem pro pstruží růstový hormon. Transgenní lososi dosahovali až čtyřikrát vyšší hmotnosti než normální lososi. Některé druhy transgenních ryb se již hospodářsky uplatnily na Kubě či v Číně. Po prvním neúspěchu při přípravě větších hospodářských zvířat se vědci rozhodli vyzkoušet jiné metody. Úspěch si slibují od narušení genu pro produkci bílkoviny myostatinu. Ten reguluje růst kosterní svaloviny. Předpoklady vycházejí z toho, že určitá velká plemena skotu mají gen pro myostatin narušen mutací. Tento princip byl již potvrzen u myši.

Další využití trasgenních živočichů, které může výrazně ovlivnit jejich chov, je jejich zvýšená odolnost vůči chorobám, neboť infekční choroby způsobují v chovech zvířat veliké škody. K tomuto účelu se nabízí více postupů jako např. začlenění určitých virových genů do chromozomu zvířat, výroba bílkovin zvířecímu tělu cizí atd. Odolnost transgenních živočichů se získává tak, že do chromozomu zvířete začleníme gen kódující obalový protein viru. Ten je pak v buňkách exprimován a obsadí buněčné receptory pro daný virus. Tím je viru znemožněno rozpoznání hostitelské buňky a navázání na ni. Odolnost vůči prionovým onemocněním se zase u zvířat dosahuje vyřazením jejich vlastních genů. Je narušen gen kódující prionový protein, neboť ten je ve správné konfiguraci tělu neškodný,

naopak se zdá, že hraje roli v udržení biologických hodin, ale pokud změní konfiguraci, stane se z něj prion, který vyvolává chorobné změny v nervové soustavě. Tato bílkovina, která je velmi odolná vůči různým vlivům (vysoké teplotě, desinfekčním prostředkům) je původcem onemocnění jako jsou horečky spongioformní encefalopatie (BSE), ovčí klusavka nebo lidské onemocnění Creutzfeldt-Jakobova choroba. Cílená inaktivace genu pro prionový protein tedy činí zvířata odolná vůči prionovým onemocněním a navíc nevyvolává významnější zdravotní následky. Jiné závažné onemocnění je u zvířat zánět mléčné žlázy (mastitis). Pokud dojnice onemocní touto chorobou, její mléko se nesmí používat a vznikají veliké ekonomické ztráty. Navíc mnohdy není léčba dokonalá a nemoc se vrací a dojnice již tak dobře nedojí. Původcem onemocnění je bakterie *Staphylococcus aureus*. Její buněčnou stěnu narušuje bílkovina zvaná lysostafin, která je produkována bakterií *Staphylococcus simulans*. Toho se tedy využívá k produkci transgenních zvířat (zatím pouze myši), kdy je do těla zvířete vpraven gen pro lysostafin tak, aby vznikal přímo v mléčné žláze. Mléko přitom neutrpí na kvalitě.

Geneticky modifikovaná zvířata by také mohla produkovat protraviny s novými vlastnostmi. Lze tak například zvýšit kvalitu masa. Do prasat lze přenést gen pro enzym ze špenátu zvaný delta-12-desaturasa. Tento enzym je schopen přeměňovat nasycené mastné kyseliny na nenasycené, tudíž je toto maso mnohem dieteticky vhodnější. Bohužel dochází i ke změně chuťových vlastností, což asi nebude konzumenty vlídně přijato. Problém výroby protravin s novými vlastnostmi je zatím nejvíce rozpracován na kravském mléce. Kravské mléko je významným zdrojem živin, ne však všichni dospělí lidé jsou schopni ho konzumovat, neumí totiž štěpit mléčný cukr laktosu. Je několik možností jak snížit obsah laktosu v mléce. První spočívá v přenosu genu kódující enzym (laktasu) štěpící laktosu a tudíž by se laktosa štěpila již v mléčné žláze. Druhý je potlačení produkce mléčné bílkoviny alfa-laktalbuminu, bez které se nemůže laktosa syntetizovat. Ovšem alfa-laktalbumin nemůže být úplně vyřazen z funkce, neboť jinak se mléko stává příliš hustým a neuvolňuje se z mléčné žlázy. Jsou také snahy o „humanizaci“ mléka, kde si vědci kladou za cíl připravit kravské mléko, které by obsahovalo bílkoviny lidského mléka a dalo se využít pro kojeneckou výživu nebo pro lidi s narušenou imunitou. Jedná se hlavně o nahrazení kravského alfa-laktalbuminu za lidský a zvýšení koncentrace laktoferinu, který váže ionty železa a v normálním kravském mléce je jeho koncentrace nižší než u lidí. Již byly získány transgenní krávy s „humanizovaným“ mlékem, jenže odpor veřejnosti je veliký a proto toto mléko nenašlo uplatnění.

V současné době je nedostatek lidských orgánů pro transplantace. Tento problém by se mohl vyřešit produkcí transgenních prasat, jejichž orgány by se daly použít pro transplantace (xenotransplantace). Je známo, že prasečí orgány jsou svou velikostí i kapa-

citou srovnatelné s lidskými. Problém je v imunitní reakci člověka na prasečí orgány. Na povrchu jejich buněk jsou totiž cukry, které lidský organismus rozpoznává jako cizí a spouští imunitní odpověď. Pokud se zablokuje enzym alfa-1,3-galaktosyltransferasa, tyto cukry se na povrch buňky nedostanou. Vědcům se již podařilo vyprodukovat selata, která mají vyřazený gen pro alfa-1,3-galaktosyltransferasu, což je přiblížilo k cíli jejich teorie. Při transplantacích prasečích orgánů však nastává ještě jeden problém, a to je vysoký obsah provirů v genomu prasat. Může proto dojít k nakažení lidí po transplantaci těmito viry.

V současné době se věnuje velká pozornost využití transgenních zvířat jako „biofermentorů“. Jedná se o produkci lidských bílkovin transgenními zvířaty. Je známo mnoho chorob, kdy je za nemoc zodpovědný nefunkční protein nebo kdy protein vůbec nevzniká. Léčba těchto chorob je možná podáváním proteinu, který nahradí nefunkční protein. Podávání zvířecích proteinů vážně na imunitní odpovědi, která může vyvolat alergické reakce. Nejvýhodnějším řešením je vnesení lidského genu do zvířete, které pak tuto bílkovinu vyrábí. Tímto způsobem mohou být připraveny i složité lidské bílkoviny, které bakterie nejsou schopné vyprodukovat, nebo které nelze produkovat pomocí linie savčích buněk pěstovaných ve fermentorech. Bakterie totiž nedokáží provést všechny kroky potřebné pro plnou biologickou aktivitu dané bílkoviny. Navíc ve srovnání s liniemi savčích buněk je výroba bílkovin pomocí transgenních zvířat velice levná a na pokrytí velké spotřeby stačí jen pár zvířat.

Asi teprve v budoucnosti se budou transgenní živočichové využívat k produkci nových materiálů. I když už v této době se jedna kanadská firma snaží vyrábět pomocí koz bílkoviny pavoučích vláken. Strukturální gen pro bílkovinu pavoučího vlákna byl spojen se sekvencí pro kozí mléčnou bílkovinu, tudíž transgenní kozy produkují pavoučí vlákno v mléce. Získanou bílkovinu kanadská firma nazvala BioSteel a chce ji uplatit v nejrůznějších oborech. Vlákno vyniká nízkou hmotností a velkou mechanickou odolností, proto se dá použít pro výrobu neprůstřelných vest či v leteckém průmyslu. Pavoučí vlákno navíc dobře snáší i lidský organismus, nabízí se tedy jeho využití v lékařství.

Je ještě jedno využití transgenních zvířat, které se sice neuplatní v potravinářství, ale přináší lidem potěšení, a to například příprava svítících akvarijních rybiček. Do rybek je vpraven gen pro zeleně fluoreskující protein GFP. Do akvarijních rybek zebříček byl již tento gen dědičně přenesen, avšak v prodeji jsou pouze neplodní jedinci, kteří slouží akvaristům jen pro potěchu. Tato rybka, pod komerčním názvem GloFish, se hlavně ve Spojených státech amerických velice dobře prodává.

### **Etické problémy spjaté s geneticky modifikovanými živočichy**

Produkce geneticky modifikovaných zvířat s sebou přináší spoustu otázek, které znepokojují hlavně laickou veřejnost. Vědci se snaží většinu rizik odstranit,

ovšem veškerá lidská činnost je s nimi spjata. To ovšem není důvod k tomu, aby se vývoj transgenních zvířat zastavil. Jsou i jiné technologie, které s sebou nesou velké riziko, např. automobilová doprava, a všichni s jejím používáním souhlasí, neboť je jasné, že její přínos vyváží rizika. Laická veřejnost vnímá genetické modifikace jako věc plnou rizik a navíc eticky nevhodnou. Je to ale pravda? Je zasahování do genetické informace zvířat nevhodné a opravdu tady existují tak velká rizika, jako si myslí většina obyvatel? Na tyto otázky kupodivu existují docela snadné odpovědi. Odpověď na první otázku přichází s velkým zpožděním, neboť člověk již zasahuje do genomu živočichů mnoho tisíc let, a to díky domestikaci a šlechtění. Tehdejší lidé při domestikaci zvířat vybírali ty jedince, kteří by normálně v přírodě vybráni nebyli. Jejich vlastnosti se nehodily pro přežití ve volné přírodě, ale k užtku lidí. To dokazuje velká odlišnost v anatomii i fyziologii dnešních domácích zvířat a jejich divokých předků. Je jasné, že divoký pes se liší od čivavy či německé dogy. Pokračováním domestikace jsou genetické modifikace živočichů. Proč tedy zastavit tento vývoj, když nyní máme mocnější nástroje? Většina se shodne na tom, že by se genetické modifikace měly zastavit pouze v tom případě, kdy budou přinášet lidem příliš velká nebezpečí, což se ovšem zatím neděje. Navíc je většina transgenních živočichů využívána pouze pro laboratorní účely. Tyto studie hrají významnou roli v pochopení funkce určitých genů, které by bez modifikací nebylo možné zjistit. Zacházení s laboratorními zvířaty se řídí jasnými pravidly a je také kontrolováno. Asi největší problém představuje chov geneticky upravených ryb, které mají zvýšenou intenzitu růstu. Ty by po úniku mohly vytlačit volně žijící druhy ryb. Nutno ovšem podotknout, že stejné riziko hrozí volně žijícím rybám i od vyšlechtěných linií ryb, které se na rozdíl od geneticky modifikovaných ryb v potocích a rybnících opravdu prohánějí. Genetické modifikace velmi dobře slouží i pro lékařské účely. Nové odvětví genových terapií nabízí možnosti v léčení dosud nevléčitelných nemocí, což každý jistě uzná jako pozitivum. Další perspektivní obor využívající geneticky modifikované živočichy je výroba lidských bílkovin pomocí zvířat – mohou být produkovány např. v mléce či vaječném bílku. Řada látek se již vyrábí díky transgenním bakteriím, některé látky však bakterie vyrobit nedokáží. Tyto bílkoviny zvládne vyprodukovat jen živočišná buňka.

Je ještě mnoho dalších příkladů pozitivního přínosu geneticky modifikovaných živočichů pro člověka, ale u všech se dá shrnout, že vědci rozhodně nezanedbávají rizika s nimi spojené a snaží se je snížit na minimum, aby i laickou veřejnost přesvědčili o neocenitelném přínosu transgenních živočichů.

### **Literatura**

1. Petr J. Geneticky modifikovaní živočichové. Geneticky modifikované organismy-současnost a perspektivy, 2004, 18-26.
2. Sorrell D. A., Kolb A. F.: Targeted modification of

- mammalian genomes. *Biotechnology Advances* Vol. 23, No 7-8, 2005, 431-469.
3. <http://www.osel.cz/index.php?clanek=463>:  
Petr Jaroslav: Transgenní zvířata.
4. <http://www.osel.cz/index.php?obsah=6&clanek=112>:  
GMO-máme se jich bát?

5. <http://www.osel.cz/index.php?obsah=6&clanek=1210>:  
Transgenní krávy odolné proti mastitidě.
6. <http://www.osel.cz/index.php?obsah=6&clanek=349>:  
Geneticky modifikovaná ryba pro akvaristy.

## CHARAKTERIZACE ODRŮD JABLEK MOLEKULÁRNĚ BIOLOGICKÝMI METODAMI

Tereza Neubauerová

Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha

### Česká jablka, klenot mezi evropským ovocem

Římské odrůdy jabloní se šířily do západní a střední Evropy, kde se křížily s místními druhy, které se tu v té době pěstovaly. V našich zemích dosáhlo šlechtitelství jabloní rozmachu především v období vlády Karla IV. ve 14. století. Další rozkvět zažilo ovocnářství za Rudolfa II. a později za vlády Marie Terezie a Josefa II. Na přelomu 18. a 19. století soustředil farář Matěj Rössler v Poděbradech 260 různých odrůd jabloní. V českých zemích byly postupně vyšlechtěny některé odrůdy jablek. Odhaduje se, že v Čechách se v současné době pěstuje asi 1500 různých kultivarů jabloně domácí, ve světě dosahuje tento počet deseti tisíc.

Odrůda (mezinárodní definice) je záměrně pěstovaný porost vyznačující a odlišující se od jiné odrůdy závažnými morfologickými, fyziologickými, cytologickými, chemickými, hospodářskými nebo jinými znaky a vlastnostmi, které jsou pro něj typické a které se při (pohlavním) rozmnožování zachovávají. Získávají se šlechtěním. Šlechtění rostlin je tvůrčí proces směřující k zlepšování genetického základu rostlin tak, aby se zvýšila jejich hospodářská hodnota. Šlechtění můžeme provádět křížením dvou odrůd nebo transgenně vnášením požadovaných genů, např. rezistence. Současný výzkum hledá především nové markery pro

selekcí šlechtitelských materiálů a vyvíjí nové metody pro stanovení DNA/RNA, například REAL-TIME PCR.

### Genobanka ve VÚRV

Rozlišování odrůd jablek se provádí na základě hodnocení morfologických, fenologických, biologických a hospodářských znaků jako je tvar, barva, ale také odolnosti vůči škůdcům, životnosti, době sběru a skladovacích podmínkách. Každá odrůda má svůj „DNA fingerprint“-otisk palce a v něm typickou sekvenci pro danou odrůdu. Seznam takových odrůd je uložen v centrální genové databance Výzkumného ústavu rostlinné výroby VÚRV Praha-Ruzyně a dílčí informace týkající se jednotlivých kolekcí jsou distribuovány na jednotlivé spolupracující ústavy. V identifikaci odrůd se stále více využívají markery a charakteristické bílkoviny. Informační systém Evidence Genetických Zdrojů rostlin (EVIGEZ) byl vyvíjen od roku 1984 ve VÚRV v Praze jako speciální uživatelský program pro dokumentaci genetických zdrojů zemědělsky využívaných rostlin (GZR) v bývalém Československu. Od roku 1992 je systém využíván v České republice v síti 11 spolupracujících institucí (lokalizovaných na 14 pracovištích), které se podílejí na Národním programu konzervace a využití genetických zdrojů rostlin. Jen o jabloni obecné (*Malus domestica*) a jejich odrůdách existuje v EVIGEZu 1 049 záznamů.

### Příklady dosavadních odrůd získaných křížením:

Název odrůdy	Popis
<b>Dukát</b>	Naše odrůda, která byla (v roce 1956) vyšlechtěna ing. A. Dvořákem ve Výzkumné a šlechtitelské stanici v Těchobuzicích. Odtud se potom rozšířila i do zahrádek. Při počátečním velmi silném růstu stromy trpí fyziologickou skvrnitostí dužniny. Tuto chorobu nejlépe odstraňuje postřik vápennými solemi, např. dusičnanem vápenatým ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ) nebo chloridem vápenatým ( $\text{CaCl}_2$ ). Úrodnost „Dukátu“ je velmi vysoká. Pro velmi dobré vlastnosti plodů a prodloužené období konzumní zralosti můžeme doporučit do zahrádek.
<b>Bláhovo oranžové</b>	Československá odrůda, povolená a pěstovaná od roku 1969. Roste středně silně, tvoří užší pyramidální koruny, nasazení větví je v ostrém úhlu. Hlavní předností jsou plodové znaky, zejména dobrá chuť a dobrá skladovatelnost

## Příklady dosavadních odrůd získaných křížením (pokračování):

Název odrůdy	Popis
<b>Šampion</b>	Původem je z České republiky, kde jej vyšlechtil O. Louda ve Střížovicích v roce 1970. Povolen byl pro pěstování v roce 1975. Podle údajů autora je to kříženec odrůd „Golden Delicious“ a „Coxova reneta“. Chuť je sladce navinutá, zpočátku mírně aromatická, dobrá. V optimální zralosti má odrůda svěží chuť, ale později ji rychle ztrácí.
<b>Bohémie</b>	BOHEMIE je česká odrůda jabloně, která vznikla jako přirozený mutant odrůdy „Rubín“. Byla nalezena v sadu ZD Sychrov panem Thořem. V roce 1990 byla přihlášená k právní ochraně. Plody má velké, chuťově podobná RUBÍNU. Na rozdíl od výchozí odrůdy se vyznačuje téměř celočervenou barvou plodů.
<b>Golden delicious</b>	GOLDEN DELICIOUS („Delicious zlatý“; „Stark“ s „Golden Delicious“) je odrůda jabloně amerického původu. Plody jsou střední, vysoce kulovité, mírně žebnaté, zelenožluté, později zlatožluté, z chladnějších poloh obvykle zčásti rzivé, v teplejších polohách a při dobrém vybarvení někdy s oranžovým líčkem. Sklízají se ve 2. pol. X, vydrží do III. Vyžadují vlhčí prostředí ke skladování, jinak vadnou. Dužnina je nažloutlá, pevná, sladká, mírně navinulá, aromatická, velmi dobrá až výborná. Stromy rostou bujně, v plodnosti slabě, plodí raně, hojně, při správném ošetření pravidelně. Proti mrazu jsou odolné. Strupovitostí trpí velmi silně, padlím slabě. Tato odrůda má řadu růstových mutací typu spur: nejznámější jsou „Starkspur Golden Delicious“, „Goldspur“, „Yellowspur Delicious“, „Frazier Goldenspur“. Rozdíly ve vlastnostech plodů od původní odrůdy nejsou výrazné. Z mutací v plodových znacích jsou nejznámější: „Delirosa“ – plody mají výrazné líčko, „Smoothee“ („Gibson Golden Delicious“) – plody jsou odolnější proti rzivosti a „Lysgolden“ – plody nemají prakticky rzivost. V posledních letech se pěstitelsky rozšiřuje klon „B“ vyselektovaný ve Švýcarsku. Zapsáno v LPO (1959).

## Transgenní jabloně

Ochrana před obalečem jablečným je věčné téma. Mohlo by proto být lákavé pokusit se vyřešit „problém obaleče jablečného“ konstrukcí transgenního insekticidního kultivaru. V supermarketech zatím transgenní jablka nedostanete, ale jsou už na světě např. jabloně se zabudovaným genem z tropické luskoviny „cowpea“ (*Vigna unguiculata*). Zkoušelo se ovlivnění dravých roztočů *Phytoseiulus persimilis* sviluškami *Tetranychus urticae*, které byly na těchto transgenních jabloních vychovány. Svilušky, nejčastěji sviluška ovocná (*Panonychus ulmi*), jsou v jabloňových sadech obávanými druhotnými škůdci. Jejich přemnožení si nejčastěji způsobí sadař tím, že nevhodným zásahem proti obaleči jablečnému vyhubí přirozené nepřátele svilušek. Ukázalo se, že studovaný transgenní kultivar jabloně predátorovi neškodí. To je jistě pozitivní zjištění. Máme tomu ale rozumět tak, že jde jen o dílčí nebo teoreticky orientované pokusy? Vždyť žádný transgenní kultivar jabloní dosud nebyl registrován. Nebo biotechnologické firmy vsutku chtějí pokračovat v konstrukci odolného „hmyzuvzdorného“ jablka? Výsadba jednoho hektaru jabloňového sadu v průměru s dvěma či třemi tisíci moderních větvenových zákrsků stojí asi půl milionu korun, sad začíná plodit po třech letech a předpokládaná životnost, pokud se má investice vyplatit, je patnáct let. Přitom riziko rezistence obaleče jablečného je zcela zřejmé. Asi by netrvalo dlouho, než by transgenní insekticidní kultivar selhal.

Byly vyšlechtěny nové odrůdy jabloně s genetickou rezistencí proti strupovitosti, nejzávažnější chorobě jabloní způsobované houbou *Venturia inaequalis*. K právní ochraně bylo přihlášeno 11 novošlechtění v ČR pod odrůdovými čísly MAL 7121, 7123, 7125, 7983, 8137, 8138, 8139, 8140, 8641, 8642, 8643 a 4 odrůdy v Evropské unii (1999/0804, 2001/0082, 2003/1163, 2003/1164, 2003/1436). Rezistentní odrůdy vyšlechtěné na stanici ve Střížovicích byly komerčně využívány zejména pro ekologické ovocnářství v Evropě a pravidelné výnosy z licencí byly významným finančním zdrojem ústavu.

## Alergie na jablka

V průmyslových zemích se v posledních deseti letech významně zvýšil výskyt alergií. Přibližně u čtyř procent populace dochází k vývoji alergie na pyly. Zdá se, že u více než poloviny z těchto osob se rozvíjí alergické reakce, jestliže konzumují potraviny rostlinného původu jako jsou jablka, celer, ořechy nebo koření. V zemích, kde rostou ve větší míře břízy (např. Švédsko), je výskyt alergie na pyl břízy a následně alergie na jablka častější. Toto představuje menší problém v zemích, kde se dřevo břízy vyskytuje zřídka, např. ve Velké Británii nebo jižní Evropě. Symptomy syndromu pyl-ovoce jsou obecně mírné. V řadě případů dochází jen ke svědění nebo mravenčení a otokům kolem úst. Existují však skupiny alergických osob, které trpí vážnějšími alergiemi na ovoce, např. anafylaktickými reakcemi ohrožujícími život. V zemích jižní Evropy

jsou tyto alergie zvláště dobře prokázány na ovoce jako jsou broskve.

V EU byl za podpory Evropské komise řešen v 5. rámcovém programu výzkumný projekt pod názvem SAFE (QLK1-CT-2000-01394). Projekt byl zahájen v lednu 2001 a doba řešení se odhadovala na tři roky. Cílem projektu byla tato témata:

- identifikovat dřívější (pre-existing) odrůdy jablek s přirozeně nízkými hladinami alergenů,
- poskytnout šlechtitelům návod na vyšlechtění nových kultivarů s nízkými hladinami alergenů,
- doporučit podmínky pěstování a posklizňového uskladňování jablek tak, aby se obsah alergenů minimalizoval,
- identifikovat režimy zpracování, které by se použily při výrobě ovocných šťáv a jiných výrobků z ovoce a byly optimální jak z hlediska kvality výrobku, tak i snížené alergenity,
- porovnat postoje běžných i alergických spotřebitelů k potravinám nového typu se zdravotním prospěchem, např. sníženou alergenitou.

### Co vyvolává alergii na ovoce a zeleninu?

#### a) alergen spojené s pyl

Bet v 1 (hlavní alergen pylu břízy) a jeho homology v potravinách rostlinného původu, např. alergen jablek Mal d 1 se podílejí na vzniku potravinových alergií dávaných do souvislosti s pylem.

#### b) ostatní alergen

Mezi tyto alergen patří proteiny, které se vyskytují v potravinách rostlinného původu, ale nejsou známy jako alergen, které se týkají syndromu pyl-potravina.

V jablkách byly již identifikovány tyto čtyři alergen:

- Mal d 1 (alergen homologický s Bet v 1, hlavním alergenem pylu břízy)
- Mal d 2 (jablečný protein podobný thaumatinu)
- Mal d 3 (jablečný protein zajišťující transfer nespecifických lipidů)
- Mal d 4 (jablečný profilin)

V rámci Evropy se na 400 pacientech alergických na jablka sledoval výskyt jednotlivých alergenů. Zjistilo se, že potravinové alergie spojené s Bet v 1 (tzv. "oral allergy syndrom", který je doprovázen spíše mírnými příznaky) jsou typické pro severní a střední Evropu. Alergie na ovoce bez účasti alergie na pyl (objevují se

vážnější symptomy) jsou typické pro jižní Evropu. Prostřednictvím metod ELISA a RIA bylo zjištěno, že nejčastější alergen jsou Mal d 1 a Mal d 3.

Ve čtyřech zemích Evropy: Nizozemí, Itálii, Španělsku a Rakousku se prováděl v létě 2003 průzkum, kterému ovoci dávají spotřebitelé přednost. Zjistilo se, že v Rakousku a Nizozemí patřila k nejvíce konzumovanému druhu jablka, zatímco v Itálii a Španělsku to byly broskve. Další spotřebitelský průzkum se prováděl na otázku, zda by spotřebitelé kupovali nízkoaergenní, geneticky modifikované potraviny. Výsledky průzkumu jsou v tabulce.

	Rakousko	Španělsko	Nizozemí
Určitě ano	4 %	26 %	30 %
Možná	32 %	46 %	44 %
Určitě ne	64 %	28 %	26 %

Rozsáhlým genetickým vyšetřováním / mapováním byly identifikovány tzv. "loci" (locus = místo uložení genu na chromozomu) pro všechny čtyři známé jablečné alergen. Některé alergen (mezi nimi také Mal d 1) mají několik takovýchto umístění, zatímco u ostatních byly identifikovány 1–3 loci. Výzkumníci došli k závěru, že pro každý alergen lze vypracovat individuální techniky šlechtění, pomocí kterých se získají nové odrůdy s nízkým obsahem příslušného alergen.

### Registrace nových odrůd

Technické zkoušky za účelem udělení odrůdových práv pro jablka a hrušky a jejich mutace budou zpracovány buď GEVES ve Francii nebo Bundessortenamt v Německu. Testování jsou rozdělena dle typu mutace mezi oba ústavy. Licencování nových odrůd je značným zdrojem peněz a proto je přesnost určování nových kultivarů a vyvíjení nových metod aktuálním problémem.

### Literatura (URL ke dni 4.12.2005)

[www.genbank.vurv.cz/genetic/resources/documents](http://www.genbank.vurv.cz/genetic/resources/documents)  
[www.vurv.cz/](http://www.vurv.cz/)  
[www.technet.idnes.cz/](http://www.technet.idnes.cz/)  
[www.botany.upol.cz/prezentace](http://www.botany.upol.cz/prezentace)  
[www.cpro.eu.int/documents/announcement](http://www.cpro.eu.int/documents/announcement)  
[www.ueb.cas.cz/download/TextCZ.pdf](http://www.ueb.cas.cz/download/TextCZ.pdf)

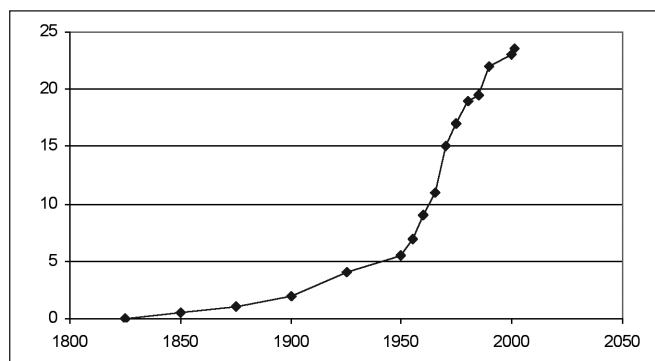
# BIOETHANOL JAKO ALTERNATIVNÍ PALIVO

Ivana Čechová

Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha

## Problém ropy a CO<sub>2</sub>

Odhaduje se, že každou sekundu se spálí v motorech vozidel na celém světě přibližně 40 000 litrů pohonných hmot. Drtivou většinu tohoto množství tvoří nafta a benzín.<sup>1</sup> Problémem mnoha vyspělých států je závislost jejich trhu na zahraničních zdrojích ropy. Její dostupnost je tedy závislá nejen na velikosti zásob a přírodních podmínkách, ale stejnou nebo dokonce větší měrou i na politické situaci. Kromě nezadržitelného ztenčování celosvětových zásob ropy a s tím související potřebou snížení závislosti na dovozu ropy a ropných produktů, jsou neméně závažným problémem tzv. skleníkové plyny, z nichž největší podíl na skleníkovém efektu má CO<sub>2</sub>. V Evropě má automobilová doprava na svědomí téměř čtvrtinu celkového množství emisí CO<sub>2</sub>, v celosvětovém měřítku je to asi 17 %. Během posledních 50 let došlo k vysokému nárůstu jeho množství uvolňovaného do atmosféry (obr. 1).<sup>1,2</sup>



Obr. 1. Množství CO<sub>2</sub> uvolňované do atmosféry<sup>1,2</sup>

Snížení emisí oxidu uhličitého v dopravě se proto nyní stává již nutností. Stále platí, že nejlepší „alternativní palivo“ je ušetřené palivo, nižší spotřeba paliv má na energetickou bilanci a emisi škodlivých plynů zásadnější vliv, než zavádění jakéhokoliv alternativního paliva. Nedá se ale očekávat, že by se růst počtu motorových vozidel zastavil. Zatímco v roce 1900 jezdilo po světě 8000 automobilů, v současné době je to mezi 600 až 800 miliony a toto množství neustále narůstá.<sup>1</sup> Proto i použití alternativních paliv by nemělo být euforické a extenzivní, ale náležitě uvážené.

## Bioethanol jako alternativa

Mezi nejvýznamnější alternativy ke klasickým palivům patří v současné době biopaliva (tj. alkoholy, estery, ethery a ostatní chemické sloučeniny vyrobené z cukernaté nebo celulóznové biomasy) a stále výrazněji se prosazuje také vodík. Bioethanol je označení kvasného lihu, určeného k palivovým účelům. Ve světě je používán výhradně jako motorové palivo, a to většinou

ve formě nízkopodílové složky benzínové směsi. Spaliny lihu neobsahují popel a síru a mají oproti benzínu nižší podíl oxidu uhličitého.

Bioethanol sám o sobě není nějakým vynikajícím motorovým palivem. Spojuje ale v sobě vlastnosti, které nevytvářejí kriticky úzké místo v celém systému jeho zavedení, tj. pokud se týká surovin, technologie výroby, vlastností, dostupného množství a distribuce. Předností bioethanolu je to, že přispívá též k řešení problémů nadprodukce potravin v zemědělství. Zemědělská produkce v ČR se za období transformace po roce 1989 snížila o téměř 30 % a její pokles dále pokračuje. Oficiální zdroje (MZe) uvádějí, že v důsledku těchto procesů leží v České republice ke konci roku 2000 více než 300 000 ha zemědělské půdy ladem.<sup>3</sup> Pěstování zemědělských plodin pro účely výroby biopaliv umožňuje využití půdy uváděné do klidu a tím přispívá k rozvoji venkova. Hlavní přednosti a nedostatky používání bioethanolu jsou porovnávány v Tab. 1.

Tabulka 1. Vlastnosti bioethanolu jako motorového paliva

Výhody	Nevýhody
Vysoké oktanové číslo	Nízká výhřevnost
Nižší celková tvorba skleníkových plynů	Nízká oxidační stabilita, je nutné přidávat antioxidant; vysoká korozivnost, interakce s běžnými plastickými hmotami
Obnovitelný a nezávislý zdroj	Větší objemová spotřeba
Dobře biologicky rozložitelný	Nelze přepravovat potrubím
Postupný pokles ceny	Zvyšuje prodejní cenu automobilového benzínu
	Vyžaduje uplatnění speciálních zákonů, vyžaduje dotace
	Směsi nelze dlouhodobě skladovat

Výchozí surovinou pro výrobu bioethanolu jsou cukernaté či celulóznové zemědělské plodiny, které se lihovarnickými postupy zpracovávají na finální produkt. Ten je pak ve směsi s benzínem distribuován do spotřební sítě. Tento systém využití bioethanolu funguje v mnoha zemích světa, kde je podporován státem (dotacemi či

daňovými úlevami) jako součást politiky využívání domácích zdrojů. V EU včetně ČR je v současné době poskytovaná finanční podpora při výrobě bioethanolu. Poslanecká sněmovna schválila 19. 10. 2005 zákon o bioethanolu, který právně ošetřuje přimíchávání bioethanolu do pohonných hmot. Podle této novely platí, že lihovary na výrobu bioethanolu nesmí produkovat či upravovat jiné druhy lihu. Důvodem tohoto opatření je podle ministerstva zemědělství zamezit zneužití tohoto lihu a daňovým únikům. Stát bude totiž z podílu biolihu v palivech vracet spotřební daň.

### Současná situace

Příkladem běžného používání biopaliv může být Brazílie, kde ethanol tvoří přibližně 30 % celkové spotřeby paliv v dopravě. Ve Spojených státech amerických při stejném objemu výroby tvoří ethanol necelá 2 % celkové spotřeby paliv v dopravě. Nejvyspělejší země světa, mezi jinými USA, Kanada, země EU, Austrálie a Japonsko, uvažují o přijetí, či dokonce již mají přijata politická opatření, která by měla vést ke značnému zvýšení využívání biopaliv v následujících letech.<sup>1</sup>

V květnu 2003 byla v rámci EU přijata směrnice Evropské komise, zavazující členské státy k postupnému a procentuálně stanovenému zvyšování ethylalkoholové příměsi do benzínu a nafty. Podle tohoto nařízení má být k 1. 1. 2006 dosaženo minimální hodnoty 2 %, v roce 2010 podílu 5,75 % a v roce 2020 podílu 20 %. Vláda České republiky projednala tuto směrnici a usnesením číslo 833 ze dne 6. 8. 2003 stanovila závazné hodnoty podílu pro Českou republiku takto: k 1. 1. 2006 – 5,0 %, k 1. 1. 2010 – 10,0 % a k 1. 1. 2020 – 20 %. Zavedení běžného používání bioethanolu jako motorového paliva je nutné také z toho důvodu, aby byla Česká republika schopná dodržet podmínky definované Kjótským protokolem, k čemuž se zavázala podpisem protokolu v roce 1998.

V České republice proto probíhá v současné době přechod od přidávání MTBE (methyltercbutyletheru - vyráběného z dovezeného methanolu) do benzínu NATURAL na ETBE (ethyltercbutyletheru) s tím, že od 1. 1. 2006 bude platit zákaz prodeje automobilových benzínů a motorové nafty, při jejichž výrobě byl použit methanol vyrobený z fosilních zdrojů a to ve formě přímé nebo nepřímé. MTBE nebo ETBE slouží ke zvýšení oktanového čísla a obsahu kyslíku v benzínu, čímž se mimo jiné snižují emise oxidu uhelnatého. Přechod z MTBE na ETBE znamená pro Českou republiku začátek energetického využívání ethanolu, který je v ETBE přítomný ve 45 hmotnostních procentech. Zároveň je ethanol přidáván přímo do automobilového benzínu. Příměs bioethanolu do benzínu snižuje celkovou spotřebu benzínu a současně zlepšuje jeho ekologickou kvalitu. Při využívání bioethanolu v automobilech, kde není třeba upravovat motory, lze používat např. směs benzínu s příměsí 5 – 7 % ethanolu. Přímé přimíchávání bioethanolu ve vyšších koncentracích než 5 % do pohonných hmot má v České republice tradici z období před 2. světovou válkou, kdy se v Československu na základě zákona z roku 1932 povinně přimíchávalo 20 % objemových jednotek kvasného lihu do veškerých pohonných hmot. Ethanol zůstal v Evropě vážným konkurentem benzínu až do konce 30tých let minulého století. Povinné míšení lihu s pohonnými látkami mělo výrazně pozitivní vliv na zemědělství a rozvoj venkova. K opětovnému nárůstu výroby ethanolu dochází postupně od 80tých let, jako reakce na energetickou krizi v roce 1973, která zvedla cenu benzínu. V současné době jsou již sériově vyráběny dopravní prostředky, které používají k pohonu vysokokonzentrovaná bioethanolová paliva (např. 95 % bioethanolu a 5 % aditiv),<sup>4</sup> jejich využití je ale minimální. Rozsah využívání jednotlivých typů paliv je ukázán v Tab.2.<sup>1</sup> Abychom v roce 2006 splnili přísluš-

Tabulka 2. Porovnání jednotlivých typů paliv.<sup>1</sup>

	obnovitelnost zdroje	dopad na lidské zdraví	rozsah využívání v ČR	rozsah využívání ve světě	podpora využívání v ČR
<b>benzín</b>	neobnovitelný	negativní	přes 40% spotřeby paliv	40% spotřeby paliv a klesající	0
<b>nafta</b>	neobnovitelný	negativní	téměř 60% spotřeby paliv	60% spotřeby paliv a narůstající	0
<b>ethanol - celulóza</b>	obnovitelný	velmi nízký	nevyužívá se	nízký	0
<b>ethanol - cukr/škrob</b>	obnovitelný	velmi nízký	nevyužívá se	Brazílie	dotace výroby
<b>gasohol (5-10% ethanol + 90-95% benzínu)</b>	neobnovitelný	nižší než u benzínu	nevyužívá se	Brazílie - téměř 30%, jinak nízký	dotace výroby ethanolu

nou evropskou směrnicí, bude třeba postavit asi šest lihovarů, každý s kapacitou 600 tisíc hektolitřů. Produkce bioethanolu se u nás ale rozjíždí velmi zvolna. Výrobci vyčkávají na jasné záruky od státu a projektování lihovaru a schválení výstavby jsou často velmi zdoluhavé. V současnosti je několik lihovarů ve výstavbě (např. ve Vrdech, v Litvínově,..), ty ale stihnou do roku 2006 sotva spustit zkušební výrobu. Velký vliv na úspěch či neúspěch výstavby lihovarů má také informovanost veřejnosti. Na některých místech (např. v Chebu) lidé stavbu nového závodu odmítli. Producenti biolíhu jsou určováni na základě výběrových řízení Ministerstva zemědělství.

### Výroba bioethanolu

Schopnost produkovat zvýšené množství ethanolu byla prokázána u mnoha mikroorganismů. Z bakterií je největším producentem *Zymomonas mobilis* (fakultativně anaerobní chemoorganotrof), která metabolizuje glukózu Entner-Doudoroffovou cestou, mezi kvasinkami je to *Saccharomyces cerevisiae* (patřící do třídy *Ascomycetes*), která glukózu zpracovává přes Embden-Meyerhof-Parnasovu dráhu. Z hlediska fyziologie, metabolismu i fermentačních vlastností by bylo pro výrobu bioethanolu výhodnější použití bakterií *Zymomonas mobilis*, které rychleji rostou, mají vyšší specifickou rychlost i rychlost tvorby produktu, nepotřebují kontrolovaný přívod kyslíku a produkují méně vedlejších metabolitů a zároveň jsou v porovnání s kvasinkami více ethanolotolerantní a osmotolerantní. Přesto se ale běžně na výrobu ethanolu v průmyslu využívá *Saccharomyces cerevisiae*.<sup>5</sup> Důvodem jsou v tomto případě pravděpodobně finanční náklady výroby a to, že pro využívání kvasinek jsou již technologie dobře vyvinuté a optimalizované.

Výchozích surovin, které lze pro výrobu bioethanolu teoreticky použít, je velký výběr, přičemž tyto suroviny se výrazně liší svojí cenou, od odpadů se zápornou hodnotou po relativně drahý bramborový škrob. Výrobní náklady bioethanolu se pak odvíjí především od této hodnoty. Ideálním zdrojem bioethanolu by tedy byl odpad rostlinného původu, vhodné technologie pro zpracování celulóзовého odpadu však zatím nejsou k dispozici. Zatím je v České republice vyvinuta technologie výroby bioethanolu tepelně tlakovou hydrolyzou lignocelulóзовé fytohmoty v kyselém prostředí. Jedná se o poloproduční zařízení, kde je touto technologií možno využívat levnější surovinu než zpracovávají agrolihovary. Z 1 tuny sušiny obilní slámy je možno získat až 648 kg hydrolyzovatelných cukrů, což představuje 202 kg bezvodého bioethanolu, jeho výrobní náklady představují cca 75 % ve srovnání s bioethanolem vyrobeným z obilovin. Tímto způsobem je možno vyrábět bioethanol i z dalších vedlejších produktů při sklizni technických plodin a olejnin a rovněž z cíleně pěstovaných energetických rostlin.<sup>6</sup> Výhodou tohoto způsobu zpracování je získání dalších hodnotných produktů. Jde zejména o práškový lignin, fural a organické kyseliny. Technologie pro průmyslové

využití celulóзовé biomasy ve větším měřítku zatím nemáme.

Pro výrobu bioethanolu se v České republice jeví jako nejhodnější vstupní surovina cukrová řepa nebo hustě seté obilniny, za předpokladu stanovení minimální nutné hodnoty obsahu škrobu pro zajištění maximální efektivity procesu výroby. Nejvíce využívanou plodinou u nás bude tedy zřejmě ozimá pšenice a tritikale (kříženec pšenice a žito) nebo cukrová řepa. S ohledem na připravovanou dotační podporu pěstování nepotravinářských lihových plodin a budování nových lihovarů se dá v České republice očekávat až 100 000 ha plochy v budoucnu osévaných lihovými plodinami.<sup>6</sup> Všechny v ČR nově stavěné lihovary počítají se zpracováváním obilí. Typ technologie výroby závisí především na typu fermentace a na tom, zda ethanol bude jediným produktem či nikoli. Zpracování pšenice nabízí totiž např. možnost výroby potravinářského oxidu uhličitého, lepku a otrub (výpalků) jako vedlejších produktů. Produkované sušené výpalky je možné kromě zpracování na kvalitní krmivo využít zároveň jako zdroj energie pro lihovar, čímž se produkce bioethanolu stává částečně energeticky nezávislou a bezodpadovou. Využití vedlejších produktů a zdroj energie pro provoz lihovaru mají následně velký vliv na konečnou cenu bioethanolu. Dalším faktorem ovlivňujícím náklady výroby je kvalita použitých technologií.

Technologie výroby bioethanolu a vedlejších produktů z pšenice lze rozdělit do následujících částí:

- příjem, skladování a čištění pšenice
- mletí pšenice (za sucha X za mokra – bude-li extrahován lepek)
- oddělení otrub
- extrakce lepku
- zkapalnění
- zcukření suspenze škrobu pomocí enzymů, mikrofiltrace (odstranění nečistot)
- fermentace po přidávku droždí (*Saccharomyces cerevisiae*)
- separace droždí odstředěním
- ultrafiltrace – oddělí se vodný roztok ethanolu
- destilace ethanolu – produktem je bioethanol s obsahem 99,6–99,8 % hm. ethanolu.<sup>7</sup>

Pro případ použití jako výchozího zdroje cukrové řepy, se technologie liší v několika zásadních krocích. Cukrová řepa obsahuje v buňkách namísto škrobu disacharidy, proto není třeba před fermentací provádět hydrolyzu. Pro fermentaci ale nelze použít přímo bulvy cukrové řepy, ty je třeba nejprve zpracovat a do procesu fermentace vstupují až melasa, sirob nebo šťáva. Většinou je pro výrobu bioethanolu využívána melasa, tu ale za stávajících podmínek nelze v ČR pro výrobu použít, protože její domácí produkce sotva kryje poptávku. Pro výrobu biolíhu je melasy nedostatek a zároveň by při výrobě bioethanolu nemělo docházet ke zvyšování produkce cukru. Tuto podmínku zpracování melasy, která je vedlejším produktem při výrobě cukru, nesplňuje. Vhodný materiál je třeba hledat mezi



cukrovarnickými meziprodukty. Jako výhodný se jeví černý sirob, což je jeden z produktů varny, svými vlastnostmi se podobá melase. V případě výroby bioethanolu z cukrové řepy by zřejmě bylo vhodné napojení lihovaru na cukrovar. K zaměření výroby cukrovarů na biolíh, namísto cukru, pravděpodobně časem ale přesto dojde. Evropská unie totiž připravuje reformu současného přísně regulovaného evropského trhu s cukrem, její podoba však zatím není jasná. Obecně by mělo jít o snížení cen cukrovky a cukru a snížení objemu národních kvót. Energetická výtěžnost výroby bioethanolu z cukrové řepy je zhruba 2,5krát vyšší než produkce biolíhu z obilovin. Zároveň vstupní investice při využití stávajících cukrovarů by byla nižší než výstavba nových lihovarů. Připravovaný systém výroby biolíhu v Česku s cukrovkou, jako výchozí surovinou, ale zatím nepočítá.<sup>8</sup>

## Literatura

1. Galle D., Cholava R., Dufek J. [www.cdv.cz/text/szp/13904/zprava13904/DU10.pdf](http://www.cdv.cz/text/szp/13904/zprava13904/DU10.pdf)
2. [www.vka.rwthachen.de/energietechnik/site/en/about/ueber\\_ol1\\_e.htm](http://www.vka.rwthachen.de/energietechnik/site/en/about/ueber_ol1_e.htm)
3. [www.tc.cz/dokums\\_publicace/alkoholova\\_paliva.pdf](http://www.tc.cz/dokums_publicace/alkoholova_paliva.pdf)
4. [www.businessinfo.cz/cz/clanky/zemedelstvi/program-podpora-vyroby/bioetanolu/0505/9087](http://www.businessinfo.cz/cz/clanky/zemedelstvi/program-podpora-vyroby/bioetanolu/0505/9087)
5. Rebroš M., Rosenberg M., Křištofiková L., Stloukal R.: Chem. Listy 99, 402-409 (2005).
6. Váňa J. <http://biom.cz/index.shtml?x=171258#p2>
7. Růžička J. <http://www.ceu.cz/eia/is/info.asp?kodAkce=KVK038>
8. <http://www.profit.cz/archiv.php?iEd=200516&iArt=12166&iSearch>

## BIODIESEL – EKOLOGICKÉ PALIVO BUDOUCNOSTI ?

**Filip Auinger**

*Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha*

V poslední době je stále více diskutována otázka využití biopaliv. Tento článek přináší přehled současné situace v této oblasti jak ve světě tak i v České republice. Zároveň se snaží ukázat odpovědi na některé zásadní otázky.

Motorová nafta (diesel) je vyráběna z ropy, tedy fosilního paliva. Zásoby této suroviny se snižují a v budoucnu budou zcela vyčerpány. Rychlý a všestranný rozvoj lidské civilizace v posledních 200 letech je spojen s transportem osob, surovin a technologií. Bez možnosti rychlé, spolehlivé a levné dopravy si není možno fungování a pokrok společnosti vůbec představit.

Technologie přeměny chemické energie kapalných paliv na energii kinetickou jsou známy již více než století a do současné doby prodělaly obrovský pokrok. Stejně progresivně se vyvíjela i sama paliva. Dnes se jedná o ucelený technologický blok, jehož součásti do sebe velmi přesně zapadají a jsou na sobě závislé. Nedostatek paliv může mít vážné důsledky a může ohrozit i fungování společnosti. Proto je vynakládáno obrovské úsilí vyvinout paliva podobných vlastností jako má benzín či nafta, která budou získávána z obnovitelných zdrojů.

Začátek používání nafty se váže do doby před více než sto lety, kdy Rudolf Diesel patentoval svůj motor, založený na zapálení paliva ve válcích horkým vzduchem zahřátým prudkým stlačením. Není bez zajímavosti, že první dieselový motor spaloval rostlinný olej.

Dieselové motory byly v minulosti používány hlavně jako pohonné jednotky pro nákladní vozy. Z důvodu malých objemových výkonů a vysokých pracovních

tlaků musely být konstruovány velké a těžké pohonné jednotky pro osobní vozy zcela nepoužitelné. Díky rozvoji nových materiálů, mikrotechnologií, které umožnily přímý vstřík paliva do válců, elektroniky a využití přeplňování mají dnešní moderní naftové motory srovnatelný výkon s benzínovými jednotkami stejného objemu. Dieselové motory pracují v porovnání s benzínovými při vyšších pracovních teplotách a tlacích. Díky tomu dosahují účinnosti asi 32 % (benzínové asi 24 %), což přináší nižší spotřebu paliva.<sup>1</sup> Zplodiny mají velmi nízký obsah škodlivin. Nevýhodou je vyšší pořizovací cena v porovnání s benzínovými motory, což je kompenzováno o něco delší životností.

Největším problémem do budoucna zůstávají zmenšující se zásoby ropy. Proto se lidstvo v současné době snaží o výrobu paliv z obnovitelných zdrojů. Je třeba zdůraznit, že pod názvem biodiesel se neukrývá jeden konkrétní produkt, ale spíše skupina produktů vycházejících z obnovitelných zdrojů, které jsou schopny nahradit motorovou naftu ve spalovacích motorech. V tomto článku se budeme zabývat téměř výhradně produkty vzniklými transesterifikací rostlinných olejů, mezi které patří i u nás tolik známé MEŘO – methylester řepkového oleje. Nebylo by však správné ostatní možnosti alespoň nezminít.

Jedná se především o přímé spalování rostlinných olejů. Tato myšlenka je velmi zajímavá. První dieselové motory z přelomu 19. a 20. století spalovaly právě toto palivo. Pro využití v moderních agregátech je třeba oleje nejprve upravit. Znamená to především zbit je příměsí a odkyselit je. Aby bylo dosaženo lepších vlastností je přidáno speciální aditivum. Před vstříkem do válců je nutno olej předeřhát, aby se snížila jeho

viskozita. Z těchto kroků plyne nutnost konstrukčních úprav motorů a vyhřívání celé palivové soustavy. Možnost spalování produktu technologicky velmi podobného jedlému oleji je velmi lákavá a elegantní. Výrobní cena litru oleje je asi dvojnásobná oproti naftě. Vhodně zvolená spotřební daň by však mohla ceny vyrovnat. Navzdory faktům vývoj v této oblasti ustrnul na mrtvém bodě, jelikož automobilky tuto technologii nepodporují. Stagnuje i vývoj aditiv.<sup>2</sup>

Druhou variantou je výroba paliva podobných vlastností jako nafta z biomasy. Tato technologie se vyvíjí také velmi pomalu, avšak určitý pokrok je patrný. Nevýhodou je malá výtěžnost procesu a nutnost čištění produktu. I přes to by se cena litru měla pohybovat okolo 18 Kč/l. Jedná se však o výrobní náklady, náklady spojené s distribucí, spotřební daň a marže by jistě způsobily růst na více než dvojnásobek.<sup>2</sup>

V případě náhlého nedostatku ropy přichází v úvahu i výroba nafty a benzínu z jiného neobnovitelného zdroje – uhlí. Nutná technologie je již vyvinutá. Je však třeba zdůraznit, že se jedná jen o nouzové řešení. Pozdější přechod na paliva vycházející z obnovitelných zdrojů je nutný, jelikož zásoby uhlí jsou také vyčerpátné. Negativní ekologické následky jsou patrné.<sup>2</sup>

Nedávno jsem v odborném tisku narazil na zprávu o německém vynálezci, který vyrábí naftu z odpadků. Pokud by to bylo možné, zajisté by se jednalo o úžasný objev, který by řešil dva problémy najednou. Osobně jsem však poněkud skeptický. Další možnosti jsou v současné době zcela okrajové a mnohdy až utopistické.<sup>2</sup>

Hlavním trendem v současné době je MEĚRO, tedy methylester řepkového oleje. Nyní se pokusím srovnat toto palivo s klasickou motorovou naftou. Konstrukční úpravy motorů jsou minimální, mnohé je možné obejít pokrokem na poli aditiv. Nevýhodou zůstává nižší cetanové číslo 45 – 50, pohybující o několik jednotek níže než u motorové nafty. To přináší zvýšení hlučnosti a snížení kultivovanosti motoru. Problémem je také vyšší kyselost biopaliv, které se v motorech chovají agresivněji. Při hoření ale produkují méně oxidu uhelnatého, uhlíčitého, siřičitého a sazí. Velmi nízké jsou i emise rakovinotvorných polycyklických sloučenin. Nevýhodou v této oblasti tak zůstává jen vyšší obsah oxidů dusíku, které jsou považovány za velmi nebezpečné skleníkové plyny. Technologie na snížení jejich emisí ve výfukových plynech je však již vyvinutá a dobře dostupná. Jedná se například o katalytickou reakci s močovinou, při které vzniká dusík, voda a oxid uhličitý. Močovina je v současné době běžně dostupná jako produkt AdBlue® u sítí OMW® a používána v některých nákladních automobilech právě k tomuto účelu. Problémem může být i nižší dostupnost technologií na produkci methylesteru v některých oblastech světa a také nutnost dopravy vstupní suroviny klasicky, nikoli produktovody, jak je tomu u ropy.<sup>1,3,4</sup>

Biopaliva jsou netoxická a také velmi snadno biodegradovatelná, rozklad v přírodě je asi 2,5krát rychlejší než u klasických ropných produktů. Mají také vyšší bod vzplanutí a lepší mazací schopnosti za vyšších teplot.

Velikou nevýhodou je velká fixovanost na produkci vstupních surovin. Ta je v současné době nedostatečná a také velmi závislá na podnebí a počasí. Oproti stávajícím dieselům biopaliva tuhnou při vyšších teplotách a jsou málo stálá, váží vodu a rychleji se oxidují, což snižuje jejich skladovatelnost a použitelnost v zimních měsících.<sup>1,3</sup>

Nové způsoby výroby methylesterů rostlinných olejů a živočišných tuků jsou v současné době poměrně energeticky nenáročné a ačkoli jsou tyto technologie velmi přísně střeženy jako součást průmyslových tajemství je vysoce pravděpodobné, že se jedná o biotechnologické procesy za použití enzymů. Klíčovým krokem je transesterifikační reakce. Ta se provádí při 60 °C a nízkých tlacích. Do procesu vstupují katalyzátor (pravděpodobně enzym), methanol, kyselina citrónová a různé rostlinné oleje a živočišné tuky, které jsou předfiltrovány, zbaveny nežádoucích příměsí a neutralizovány. Výtěžnost je asi 98 % hmotnosti vstupní suroviny. Procesem vznikají methylestery rostlinných olejů a glycerin.<sup>5</sup>

Ve světě jsou tyto technologie v současné době využívány a rozvíjeny především v Asii, jmenovitě Malajsií a na Filipínách. Zde již funguje několik rafinerií, které připravují biodiesel transesterifikací z palmového oleje. Výhodou jsou především asi dvojnásobné výnosy vstupní suroviny z hektaru v porovnání s řepkou olejkou. Produkce je řádově 100 tisíc barelů za rok na rafinerii. Vzniklý methylester je určen pro vývoz. Jelikož legislativa EU příkazuje použití biopaliv od roku 2005, očekává se zájem členských států o jejich nákup a růst cen. Tato politika se však poněkud odchyluje od původního evropského záměru snižování závislosti na vnějších dodávkách energetických surovin.<sup>6</sup>

V Evropské unii dochází ke značným pokrokům, co se týče biopaliv. Meziroční nárůst produkce je asi 35 %. Již v roce 2005 každý ze členských států měl využívat nejméně 2 % paliv založených na obnovitelných zdrojích, v roce 2010 to má činit dokonce 5,75 %. Aby toto bylo dosaženo, budou nutné obrovské investice i pobídky jak pro pěstitele energetických plodin, tak pro průmyslové výrobce biopaliv. Společnosti Shell a Choren Industries se dohodly na stavbě rafinerie na výrobu biopaliv v Německu, jejíž roční produkce by měla být asi 200 milionů litrů, což je asi 1,7 milionu barelů. Měla by začít vyrábět v roce 2009. Německo je v současné době největším výrobcem biopaliv v EU, v roce 2004 vyprodukovalo 1065 tisíc metrických tun. ČR je se dělí o 5. místo s Rakouskem produkcí asi 60 tisíc tun za rok. Cílem je, aby kolem roku 2020 bylo z obnovitelných zdrojů produkováno asi 25 % energie. Produkce biodieselu a bioethanolu tehdy dosáhnou maximálních možných produkcí. Také v USA je zájem o nahrazení ropy biopalivy velmi vysoký. Americké ministerstvo energetiky zveřejnilo studii o využití a produkci biopaliv. Dle ní by v současné době bylo možno v USA, při využití všech zdrojů a technologií, pokrýt biopalivy asi 5 % roční spotřeby. Je však uvažována především výroba bioethanolu, jako náhrady za benzín.<sup>7,8</sup>

Česká republika byla v ještě před deseti lety jedním z nejpokrokovějších států na světě ve využívání biopaliv. V minulosti byla česká bionafta, tvořená z 31 % (V/V) MEŘO a 69 % klasické motorové nafty, k dostání téměř u každé benzínové pumpy a díky nižší dani byla levnější než klasická nafta. Motoristy byla používána a těšila se značné oblibě. Škoda Auto jako jediný člen koncernu VW umožňovala tankovat tento produkt do nových vozů bez nebezpečí ztráty záruk. V minulých letech, kdy jsme se připojili k EU a zavázali se plnit její směrnice o použití biopaliv, byla bionafta zvýšením daně z nepochopitelných důvodů znevýhodněna natolik, že v současné době prakticky není možné tankovat tento produkt, jelikož je cenově srovnatelný s běžnou naftou a zákazníci jej odmítají. Z toho důvodu se biopaliva přestala u nás využívat, což nese hned několik neblahých důsledků. Za nedodržení směrnic budeme nespíše postiženi sankcemi. Zájem lidí o bionaftu, na kterou byli zvyklí klesl a bude chvíli trvat než jejím užití opět přivyknou. Průmyslová výroba stagnuje místo toho, aby se tento perspektivní obor rozvíjel. Ačkoli podpora výroby bionafty stála Českou republiku 16 miliard korun, bionafta v současnosti není a nespíše ani v blízké budoucnosti u čerpadel nebude. Zajímavé je i zjištění Univerzity Pardubice, která zpracovala studii o využití dotací. Z 770 miliónů Kč na investiční půjčky již skončil majetek za 400 miliónů v konkurzu. Dotovaný methylester určený pro spotřebu v ČR byl vyvážen, ačkoli je vývoz rentabilní i bez dotací. Zbývá dodat, že tendr na udělení koncesí výrobcům biolihu dopadl podobně neslavně.<sup>9,10,11</sup>

Hlavní surovinou pro výrobu biodieselu v Evropě je řepka olejka. Ta tvoří spolu s pšenicí hlavní komoditu v ČR. V roce 2001 bylo sklizeno více než 973 tis tun semene řepky olejky. Celkový obsah oleje v semenech řepky je cca 45%. Při průměrném obsahu lisovatelného oleje asi 33 % a využití řepky jen pro produkci biopaliv by bylo možné vyrobit v domácích podmínkách asi 320 tisíc tun oleje, což představuje více než 310 tisíc tun biopaliva (0,35 mld. litrů). Pro srovnání bylo v ČR v roce 2005 zpracováno asi 7,74 miliard tun ropy a u čerpacích stanic bylo prodáno 2,19 miliardy litrů motorové nafty. Při využití poloviny roční produkce řepkového oleje je možno vyprodukovat 0,18 mld. litrů MEŘO, tedy 8,2 % spotřeby motorové nafty. U čerpacích stanic však bylo prodáno jen 0,01 mld. litrů a MEŘO tak tvořily jen 0,4 % prodeje motorové nafty. Přitom již v roce 1995 měla ČR kapacity pro zpracování desetinasobného množství a vyráběla 92 mil. litrů. Produkce v roce 2004 byla jen asi 70 mil. litrů MEŘO. Dle posledních zpráv společnost Setuza ukončí v příštích třech letech výrobu mýdel, pracích prášků, olejů a margarínů a zaměří se jen na produkci biodieselu. Celková produkce by měla dosáhnout 200 tisíc tun ročně. Setuza se hodlá zaměřit také na výrobu biolihu – dalšího biopaliva z obnovitelných zdrojů. Konečně se tedy vývoj produkce biopaliv v ČR začíná ubírat správným směrem.<sup>1,12,13,14,17</sup>

Výnosy řepky olejky se v ČR pohybují okolo 2,8 tuny semen z hektaru. Plodina je však závislá na podnebí a počasí. Tyto faktory způsobují značné výkyvy, projevující se produkcí 1,9 – 3,1 tun z hektaru za rok. Z toho plynou velká rizika při přechodu na biopaliva založená na energetických plodinách. V neúrodném roce budou k dispozici jen asi 2/3 suroviny a pak hrozí akutní nedostatek paliva. S ohledem na destabilizaci světového klimatu jsou rizika ještě vyšší. Přechod na obnovitelné zdroje je však nutný.<sup>12</sup>

Ačkoli je o výrobu biopaliv v současné době obrovský zájem, mají umožnit jen jakési přechodné období. Ve vzdálené budoucnosti se předpokládá jako hlavní transportovatelný zdroj „čisté“ energie vodík. Z malé hmotnosti je možné získat velké množství absolutně čisté energie, 12krát více než z motorové nafty. Jeho chemická energie může být přeměněna jak na kinetickou energii spalovacím motorem, tak i na elektrickou energii palivovým článkem. Realizace produkce biotechnologickou cestou založenou na fotolýze vody je stále hudba daleké budoucnosti. Vodík je v současnosti vyráběn především elektrolýzou vody, což je proces energeticky náročný. Jediným zdrojem energie, který je sice založený na neobnovitelném zdroji, avšak zásoby jsou dostatečné, je jaderná energie. Ačkoli má mnoho odpůrců, je třeba připravit se na to, že pokud si lidstvo chce udržet svou životní úroveň a všechny přínosy moderních technologií, bude v budoucnu využívat stále více tento zdroj.

Není třeba mít přehnané obavy. I jaderná energie je stále čistější a bezpečnější. Nebezpečný radioaktivní odpad by mohl být při procesu zvaném transmutace „spalován v neutronových hořácích.“ Jsou to zařízení způsobující rozpad nestabilních jader atomů v proudu neutronů, což vede k produkci tepla a dalších neutronů. Z procesu odchází jen stabilní jádra, tedy jádra velmi málo či vůbec radioaktivní. Na podobném principu termálních proudů akceleračně produkovaných neutronů jsou založeny i nové technologie umožňující využívat podkritických množství jaderných paliv k výrobě energie. Tím klesá nebezpečí nehody na minimum. Jako palivo pro tuto technologii je navíc možné využít <sup>232</sup>Th, jehož zásoby vydrží tisíciletí. Jaderná energie je tak jediný dlouhodobě udržitelný zdroj, schopný uspokojit spotřebu a reagovat na její růst.<sup>15,16</sup>

Zdá se tedy, že bionafta bude v budoucnosti využívána jen po několik desítek let. Umožní období pro přechod k novým technologiím, které budou mnohem ekologičtější, jejichž základem bude využití vodíku. Jejím hlavním úkolem je tedy oddálit vyčerpání zásob fosilních paliv, popřípadě zmírnit všechny důsledky tohoto stavu.

## Literatura

1. Internetový odkaz  
<http://max.af.czu.cz/~miki/biodiesel.htm>, (6.2006)
2. AutoTIP: 9/2005, 10/2005
3. Internetový odkaz Wikipedie:  
<http://www.wikipedie.com>, (5.2006)

4. Internetový odkaz OMW: <http://www.omw.cz>, (12.2005)
5. Firemní prezentace Desmet Ballestra: Biodiesel Technologies & Plants
6. Inform **16**, 491-494 (2005)
7. Internetový odkaz US Department of Energy: <http://www.eere.energy.gov>, (5.2006)
8. Internetový odkaz European biodiesel board: <http://www.ebb-eu.org>, (5.2006)
9. Mařík M.: Bionafta u českých pump zatím nebude: HN 3.12.2005
10. Internetový odkaz Škoda-auto: <http://www.skoda-auto.cz>, (10.2004)
11. Internetový odkaz [http://www.enviweb.cz/?sec-part=puda\\_archiv\\_fbcjf\\_cz\\_&PHPSESSIDVWB=3fa3b2a0d880d53930941d82aeb4a5d9](http://www.enviweb.cz/?sec-part=puda_archiv_fbcjf_cz_&PHPSESSIDVWB=3fa3b2a0d880d53930941d82aeb4a5d9) (6.2006)
12. Komberec S.: Ekonomika pěstování řepky: Zemědělský týdeník 02/2002
13. Internetový odkaz Ministerstvo průmyslu a obchodu ČR: <http://www.mpo.cz>, (6.2006)
14. Internetový odkaz Tiscali AutoMoto: <http://auto.tiscali.cz> (5.2006)
15. Bowman C. D.: Annual Review of Nuclear and Particle Science: **48**, 505-556
16. Souhrnná zpráva: 6. international conference on emerging nuclear energy systems; 16-21 Jun 1991; Monterey, CA (United States)
17. Internetový odkaz AUTO.CZ: <http://news.auto.cz> (6.2006)

## INFORMAČNÍ A VZDĚLÁVACÍ PROGRAM PRO VYUŽITÍ BIOTECHNOLOGIÍ V OBLASTI ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ A UDRŽITELNÉHO ROZVOJE



Od března letošního roku probíhají v hotelu Populus v Praze semináře Informačního a vzdělávacího programu pro využití biotechnologií v oblasti životního prostředí a udržitelného rozvoje. Program je zahrnut do Jednotného programového dokumentu pro Cíl 3 regionu NUTS 2 hlavní město Praha a je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem ČR, což umožňuje zájemcům se sítlem v Praze účast bez přímé úhrady vložného.

Koordinátorem programu je společnost Envisan-Gem, a.s., která přizvala ke spolupráci jako partnery Vysokou školu chemicko-technologickou v Praze, Mikrobiologický ústav AV ČR, společnost Wastech, a.s. a Vodní zdroje Ekomonitor spol. s r.o. a neziskovou organizaci STUŽ, a ve spolupráci s nimi připravila jednotlivé aktivity tak, aby vyhovovaly cílovým skupinám.

- Studentům VŠ, doktorandům a mladým vědeckým pracovníkům je určen Školící program laboratorního výcviku nových molekulárních metod v biotechnologiích, Vzdělávací program o pokroku a nových metodách v biotechnologiích, Školení mladých odborníků v bioinformatice. Vzdělávací program o nových poznatcích v potravinářské mikrobiologii a Program získávání klíčových poznatků v oboru biotechnologií pro životní prostředí je určen nejen studentům, ale i pracovníkům z praxe. Dalšími aktivitami je podporováno celoživotní vzdělávání školicích pracovníků a vyrovnávání vzdělanosti mladých domácích odborníků se světovými standardy.
- Ostatní aktivity jsou koncipovány tak, aby rozšiřovaly znalosti zaměstnanců veřejné správy, řídicích pracovníků v podnikatelské sféře a veřejnosti se zájmem o ochranu životního prostředí včetně nevládních neziskových organizací působících v této oblasti. Tyto aktivity jsou tvořeny výše zmíněnými semináři, jejichž program umožňuje probrat vždy dané téma nejen systematicky a detailně, ale i v souvislostech.
- První pětice seminářů již byla realizována (týkala se biotechnologických metod úpravy bioodpadu, využití biotechnologických metod při nápravě ekologických zátěží a biotechnologických metod v ochraně ovzduší). Další pětice se uskuteční v podzimních měsících letošního roku a bude opět (s jedinou výjimkou) probíhat v pražském hotelu Populus. Tématy seminářů budou geneticky modifikované organismy, bioodpady, inovační biotechnologie pro úpravu odpadů, kombinované sanační technologie a využití biotechnologických metod při nápravě starých ekologických zátěží.
- Seminářům organizovaným Vodními zdroji Ekomonitor spol. s r.o. udělilo Ministerstvo vnitra ČR podle par. 31, odst. 5, zák. č. 312/2002 Sb. akreditaci, takže tyto akce mají charakter průběžného vzdělávání pro úředníky a vedoucí úředníky územních samosprávných celků a účastníci získávají osvědčení o absolvování.

**Informace o datech a programech jednotlivých seminářů i dalších akcí v rámci tohoto programu lze vyhledat na internetové adrese [www.bioinfo.cz](http://www.bioinfo.cz). PROGRAM PROBÍHÁ OD 1. ÚNORA 2006 DO 31. LEDNA 2008.**