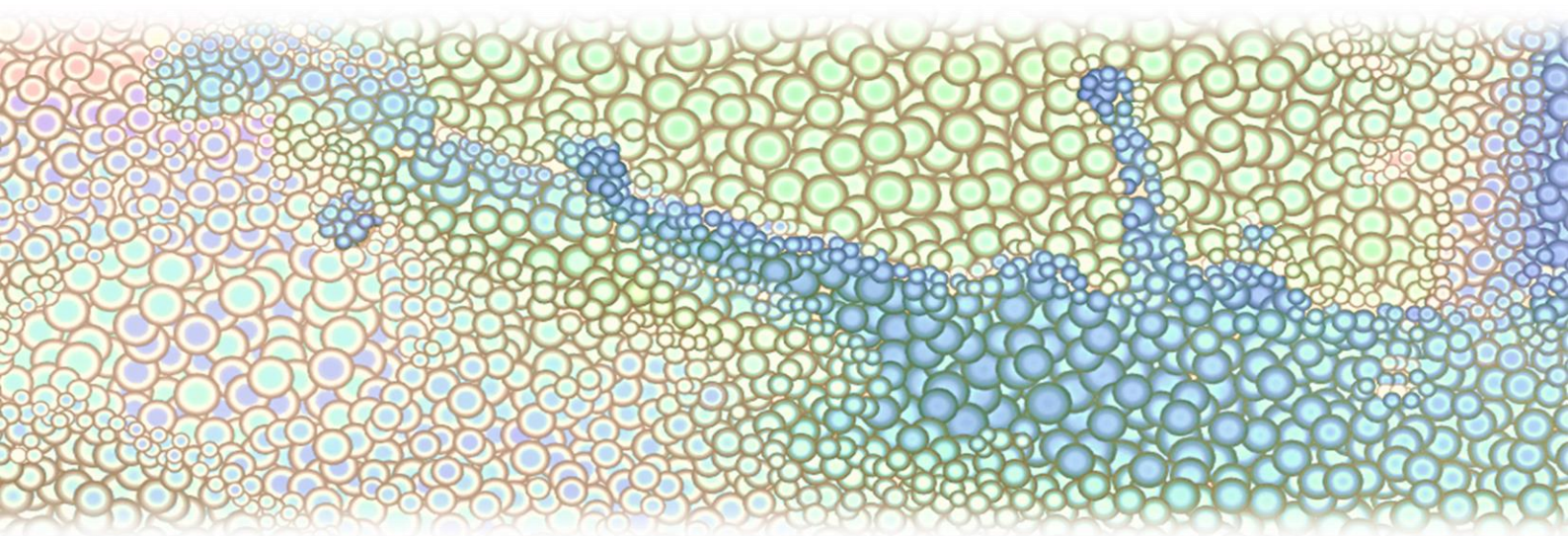


biológia ekológia chémia



časopis pre školy
ročník 22
číslo 1
2018

biológia ekológia chémia

časopis pre školy
ročník 22
číslo 1
2018

ISSN 1338-1024

rubriky

DIDAKTIKA PREDMETU

návrhy na spôsob výkladu učiva,
interpretovanie skúseností z
vyučovania, organizovanie exkurzií,
praktických cvičení a pod.

ZAÚJÍMAVOSTI VEDY

odborné vedecké články, najnovšie
vedecké objavy, nové odborné
publikácie a pod.

NOVÉ UČEBNICE

nové učebnice z biológie, ekológie,
chémie

INFORMUJEME A PREDSTAVUJEME

rozličné aktuálne informácie z rôznych
podujatí v oblasti školstva, informácie
z MŠ SR, z vedeckých inštitúcií, študijné
smery, odbory univerzít v SR, vedecké
pracoviská, uplatňovanie absolventov

NAPÍŠALI STE NÁM

námety, otázky čitateľov

OLYMPIÁDY A MIMOŠKOLSKÉ AKTIVITY

informácie o biologických a chemických
olympiádach, podnety na samostatnú
a záujmovú prácu žiakov mimo
vyučovacieho procesu

RECENZIE

posúdenie nových publikácií z odborov

OSOBNOSTI A VÝROČIA

profil osobností z chemických
a biologických vied, jubileá

NÁZORY A POLEMIKY

diskusie z korešpondencie čitateľov

NÁPADY A POSTREHY

rozličné námety použiteľné vo vyučovaní,
pripomienky k učebniciam, možnosti
používania alternatívnych učebníc,
iných pomôcok, demonštrovanie pokusov
a pod.

PREČÍTALI SME ZA VÁS

upozornenie na zaujímavé články,
knihy, weby

vydavateľ

Trnavská univerzita v Trnave
Pedagogická fakulta
Priemyselná 4
P. O. BOX 9
918 43 Trnava



redakcia

Trnavská univerzita v Trnave
Pedagogická fakulta
Katedra chémie

editor čísla

PaedDr. Mária Orolínová, PhD.

redakčná rada

prof. RNDr. Jozef Halgoš, DrSc.
prof. RNDr. Marta Kollárová, DrSc.
prof. RNDr. Eva Miadoková, DrSc.
prof. RNDr. Pavol Záhradník, DrSc.
prof. RNDr. Pavol Eliáš, CSc.
prof. PhDr. Ľubomír Held, CSc.
prof. RNDr. Miroslav Prokša, CSc.
doc. RNDr. Jarmila Kmeťová, PhD.
doc. RNDr. Zlatica Orsághová, CSc.
doc. Ing. Ján Reguli, CSc.
doc. RNDr. Ľudmila Slováková, CSc.
doc. RNDr. Katarína Ušáková, PhD.
doc. RNDr. Jozef Tatiersky, PhD.
doc. RNDr. Ivan Varga, PhD.
PhDr. Jana Višňovská

Časopis Biológia, ekológia, chémie
vychádza štvrťročne a je bezplatne
prístupný na stránkach
<http://bech.truni.sk/>

ISSN 1338-1024



obsah

DIDAKTIKA PREDMETU

4

**Bilingválne vzdelávanie prírodovedných predmetov v anglickom
jazyku na slovenských bilingválnych gymnáziách**
Barbara Kordíková, Beáta Brestenská

11

K výsledkom prieskumu používania učebníc biológie pre 7. ročník
Mariana Páleníková, Soňa Nagyová

ZAÚJÍMAVOSTI VEDY

13

**Sú „vzácné“ ochorenia vzácné? Metabolomika a jej nástroje
v personalizovanej medicíne**
Renáta Górová, Ivan Ostrovský, Gabriela Addová, Helena Jurdáková

17

Možnosti alternatívnej fortifikácie materského mlieka
Peter Krcho, Martina Skokanová, Lenka Szerdiová

24

Plynová chromatografia a jej využitie
Helena Jurdáková, Renáta Górová

recenzenti

RNDr. Gabriela Gavurníková, CSc.
PaedDr. Katarína Kotuláková, PhD.
doc. MUDr. Milan Kuchta, CSc., mim. prof.
RNDr. Renáta Kunová, PhD.
doc. Ing. Ján Reguli, CSc.

Bilingválne vzdelávanie prírodovedných predmetov v anglickom jazyku na slovenských bilingválnych gymnáziách

Mgr. Barbara Kordíková¹

doc. RNDr. Beáta Brestenská, PhD.²

¹Katedra jazykov
Prírodovedecká fakulta
Univerzita Komenského v Bratislave
Ilkovičova 6, 84215 Bratislava
Slovensko
barbara.kordikova@uniba.sk

²Katedra didaktiky prírodných vied, psychológie
a pedagogiky
Prírodovedecká fakulta
Univerzita Komenského v Bratislave
Ilkovičova 6, 84215 Bratislava
Slovensko
beata.brestenska@uniba.sk

Abstract

This article deals with science bilingual education in English language at 5-year bilingual grammar schools in Slovakia. The main aim of our research was to look at the current situation of science bilingual education via collecting the opinions of school principals and science teachers and to point out to the most severe issues they face in everyday teaching. In addition, the research also focused on finding out the extent to which the teachers see a difference in teaching science in Slovak and English language. Based on the research results, it was also our intention to come up with relevant suggestions, which might be found useful in facilitating the tough work of science teachers. In order to fulfil our goals a questionnaire and semantic differential were used as main research methods.

Key words

science, teachers, bilingual education, English, semantic differential

Úvod

V súčasnej globalizovanej dobe sa čoraz viac kladie dôraz na ovládanie cudzích jazykov, Slovensko nevynecháva. Predovšetkým vstup SR do EÚ, ktorý priniesol voľný pohyb osôb, zaujímavé pracovné i študijné možnosti, prispel k významným zmenám aj v jazykovom vzdelávaní na Slovensku. Navyše snaha o viacjazyčnosť a jazykovú diverzitu je v Európskej únii už dlhodo- bo proklamovaná a po prvýkrát bola oficiálne zakotvená v Barcelonskej deklarácii z roku 2002 formulovaním požiadavky vyučovať aspoň dva cudzie jazyky od útleho veku tak, aby bežný Európan ovládal aspoň dva cudzie jazyky okrem jazyka materinského (EK, 2012). Vstupom do EÚ sa aj Slovensko zaviazalo plniť túto jazykovú politiku na národnej úrovni. Z týchto praktických dôvodov sa schopnosť ovládať cudzie jazyky stala nevyhnutnosťou, a tak mnohé slovenské školy reagovali na novú situáciu zriaďovaním nových bilingválnych škôl, resp. študijných programov. Podľa štatistiky Centra vedecko-technických informácií Slovenskej republiky (CVTI SR) k septembru 2017 bolo registrovaných 69 bilingválnych gymnázií s minimálne jednou bilingválnou triedou čo predstavuje až 28,6 % všetkých gymnázií, 15 stredných odborných škôl (3,4 %) a 6 základných škôl

(0,3 %). Za ostatných desať rokov CVTI SR zaznamenal až 100 % nárast počtu bilingválnych gymnázií – v šk. roku 2007/2008 to bolo 36 gymnázií (14,2 % všetkých gymnázií) zatiaľ čo k septembru 2017 bolo registrovaných až 69 bilingválnych gymnázií (28,6 % všetkých gymnázií) (CVTISR, 2018).

Mnohí autori uvádzajú, že niet pochýb, že snaha vzdelávať deti v bilingválnom prostredí nespočíva len v získavaní lepších jazykových zručností, ale aj v podpore rozvoja vyšších myšlienkových funkcií ako napr. kreatívneho myslenia, selektívnej pozornosti, či schopnosti robiť viac činností naraz. Bilingvizmus môže hrať dôležitú úlohu aj v interkultúrnej výchove, keďže študenti sú cez jazyky, ktoré používajú v komunikácii, zároveň konfrontovaní aj s inými kultúrami, ktoré takto môžu lepšie spoznávať a stávajú sa k nim tolerantnejší. Navyše sa ukazuje, že vyučovanie nejazykových predmetov prostredníctvom cudzieho jazyka (známe aj pod pojmom CLIL – Content and Language Integrated Learning) patrí medzi najprogressívnejšie metódy vyučovania cudzích jazykov v Európe (European White Paper on Education and Training Towards the Learning Society, 1996). Podľa Gondovej „výskumy poukazujú na to, že žiaci sa najlepšie naučia cudzí jazyk vtedy, ak sa ich pozornosť sústreďí na učenie sa niečoho iného, v tomto prípade obsahu predmetu, a nie na učenie sa jazyka kvôli jazyku samotnému (GONDOVÁ, 2013).“ Táto metóda je tiež pre žiakov vysoko motivujúca, pretože im umožňuje používať cudzí jazyk v zmysluplných, nie umelo navodených situáciách priamo na hodinách nejazykových predmetov, vrátane predmetov prírodovedných.

Ciele a výskumné metódy

Cieľom nášho výskumu bolo zmapovať situáciu bilingválneho vzdelávania prírodovedných predmetov v

anglickom jazyku na slovenských bilingválnych gymnáziách, keďže anglický jazyk v bilingválnom vzdelávaní dominuje (gymnázia s vyučovacím jazykom anglickým tvoria až 62 % všetkých bilingválnych gymnázií na Slovensku) a ich počet neustále narastá. Ďalším cieľom výskumu bolo tiež zistiť nakoľko učitelia pociťujú rozdiel vo vyučovaní prírodovedných predmetov v slovenskom a anglickom jazyku a pomenovať najakútnejšie problémy, s ktorými sa v bilingválnom vzdelávaní stretávajú v snahe prispieť ku skvalitneniu prípravy budúcich učiteľov prírodovedných predmetov, ktorí by mali záujem učiť aj v cudzom jazyku. Na naplnenie našich cieľov sme zvolili dotazník a sémantický diferenciál ako hlavné výskumné metódy.

Dotazník

Dotazník je v pedagogickom výskume pomerne obľúbená výskumná metóda, pretože umožňuje zozbierať väčšie množstvo dát v pomerne krátkom čase. Navyše ako uvádza Prokša, Held a kol. jeho použitie má veľký význam na začiatku výskumu v snahe zorientovať sa v skúmanej problematike – v našom prípade v problematike anglického bilingválneho vzdelávania (PROKŠA & HELD L., 2008).

Ako prvý bol vypracovaný veľmi krátky elektronický dotazník pre riaditeľov bilingválnych gymnázií s cieľom získať ich názor na súčasné bilingválne vzdelávanie a najčastejšie problémy, s ktorými sa dennodenne stretávajú, ako aj s cieľom získať priame kontakty na učiteľov prírodovedných predmetov, ktorí vyučujú daný predmet v anglickom jazyku. Avšak vzhľadom na to, že návratnosť dotazníkov bola len 28,5 %, museli sme pristúpiť k prácnemu vyhľadávaniu kontaktov učiteľov prírodovedných predmetov z webových stránok jednotlivých škôl.

Následne bol vypracovaný druhý elektronický dotazník adresovaný konkrétnym učiteľom prírodovedných predmetov. Úspešne bolo odoslaných 139 dotazníkov, z ktorých sa vrátilo 41, čo predstavuje len 29 %. V slabej návratnosti sa tak v plnej miere prejavila výrazná nevýhoda dotazníkovej metódy bez priameho osobného vplyvu na respondentov.

Dotazník pre učiteľov bol rozdelený na 3 časti. Prvá časť bola zameraná na rýchle zozbieranie základných údajov učiteľov, ako napr. pohlavie, vek, typ školy a prírodovedný predmet, ktorý vyučujú. Druhá časť sa týkala otázok, v ktorých sa učitelia vyjadrovali k ich skúsenostiam s bilingválnym vyučovaním. Táto časť obsahovala predovšetkým uzavreté, polouzavreté, ale aj škálované položky. Tretia časť zahŕňovala sedembodovú škálu 20 bipolárnych adjektív na zistenie osobného postoja učiteľov k pojmom: hodina prírodovedného predmetu v anglickom jazyku a hodina prírodovedného predmetu v slovenskom jazyku. Učitelia sa samozrejme vyjadrovali k prírodovednému predmetu, ktorý vyučujú.

Sémantický diferenciál

Sémantický diferenciál je výskumná metóda, ktorá je často aplikovaná v sociálnej psychológii, marketingu, prieskume trhu, ale čoraz častejšie sa používa práve v pedagogickom výskume. V školstve sa s obľubou používa pri autoevaluácii školských predmetov, študijných programov, alebo pri zisťovaní efektivity zavádzania nových vyučovacích metód v snahe zlepšiť vyučovací proces. Uvedená metóda je pomerne jednoduchou formou zisťovania osobných, subjektívnych postojov respondentov k vybraným pojmom. Každý pojem má totižto dva druhy významov – denotatívny (zjavný, všeobecne platný) a konotatívny (skrytý, subjektívny význam). Napríklad pod pojmom „trest“ si každý môže predstaviť niečo iné: fyzický trest, domáce väzenie, zákaz obľúbenej činnosti, krik a pod. (GAVORA, 2010).

Podstatou tejto metódy je súbor bipolárnych adjektív, ako napr. zaujímavý-nudný, ľahký-ťažký, uvoľnený-napätý, atď., ktoré by mali byť relevantné k pojmu, ktorý je respondentmi posudzovaný. Respondenti vyjadrujú svoj postoj k danému pojmu najčastejšie na sedembodových škálach, ale v literatúre sa udávajú aj škály troj, päť či šesťbodové. Adjektíva boli radené tak, že na ľavej strane škály bolo vždy adjektívum pozitívne a na pravej strane adjektívum negatívne. V našom výskume sme sa inšpirovali sedembodovou škálou 20 bipolárnych adjektív, ktorá bola použitá vo výskume PaedDr. Milana Kubiátka, PhD. „Sémantický diferenciál ako jedna z možností skúmania postojov žiakov druhého stupňa základných škôl k chémii“ (KUBIATKO, 2016). So súhlasom autora sme túto škálu adjektív prevzali a následne mierne upravili výmenou troch dvojíc bipolárnych adjektív tak, aby nášmu výskumu lepšie vyhovovali (Tab. 1). Pre oba pojmy – hodina prírodovedného predmetu v anglickom jazyku a hodina prírodovedného predmetu v slovenskom jazyku – bola zostavená taká istá škála bipolárnych adjektív.

Respondenti boli v dotazníku poučení o tom, ako daný pojem hodnotiť – v hodnotiacej škále mali označiť vždy jednu hodnotu 1-7 podľa toho, ku ktorému prídavnému menu, mal podľa nich, hodnotený pojem bližšie (čím nižšia hodnota, tým pozitívnejší postoj, čím vyššia hodnota, tým negatívnejší postoj k danému pojmu).

Po zozbieraní odpovedí respondentov sme získané dáta podrobili faktorovej analýze. Faktorová analýza je súbor metód pre analýzu vzájomných vzťahov medzi premennými a redukciu počtu premenných. Výsledkom faktorovej analýzy je extrakcia niekoľkých hypotetických premenných, tzv. faktorov, ktoré sú lineárnymi kombináciami pôvodných premenných a vysvetľujú vzťahy medzi týmito premennými (URBÁNEK, 2002). Na základe faktorovej analýzy sme rozdelili súbor bipolárnych adjektív do troch faktorov (dimenzií), ktoré sme pome-

novali tak, aby čo najlepšie vystihovali celú skupinu zoskupených adjektív. Pri vyhodnocovaní výsledkov sémantického diferenciálu sme sa zamerali na základné štatistické ukazovatele – aritmetický priemer, medián a

smerodajnú odchýlku. Tieto ukazovatele boli vypočítané pre jednotlivé položky aj dimenzie sémantického diferenciálu a sú prezentované graficky.

Tab. 1 **Sedemstupňová škála 20 bipolárnych adjektív hodnotiaca pojem „Hodina prírodovedného predmetu v anglickom jazyku.“**

Hodina prírodovedného predmetu v anglickom jazyku

		1	2	3	4	5	6	7	
1.	vzrušujúca								nudná
2.	uvoľnená								napätá
3.	jasná								mätúca
4.	priateľská								neprívetivá
5.	prospešná								bezvýznamná
6.	systematická								chaotická
7.	spôsobujúca radosť								naháňajúca strach
8.	ľahká								ťažká
9.	zrozumiteľná								nepochopiteľná
10.	komfortná								nepohodlná
11.	hodnotná								bezpečná
12.	neškodná								nebezpečná
13.	jednoduchá								zložitá
14.	prijateľná								frustrujúca
15.	zaujímavá								jednotvárna
16.	bezpečná								riskantná
17.	potešujúca								nepríjemná
18.	zreteľná								nejednoznačná
19.	dobrá								zlá
20.	nenásilná								nútená

Analýza výsledkov

Z analýzy výsledkov dotazníkov pre riaditeľov bilingválnych gymnázií vyplýva, že prírodovedné predmety sú stále silne zastúpené na všetkých bilingválnych gymnáziách. Okrem biológie, chémie, geografie a matematiky sa na tomto type škôl často v anglickom jazyku vyučuje aj predmet fyzika a informatika.

Výsledky dotazníka tiež potvrdzujú dobre známy fakt, že dopyt po odborne a jazykovo kvalifikovaných učiteľoch je na Slovensku dlhodobo veľmi veľký. Väčšina riaditeľov (72 %) pociťuje výrazný nedostatok kvalifikovaných učiteľov v bilingválnych programoch. Ako ďalšie najväčšie problémy v bilingválnom vzdelávaní riaditelia škôl tiež uviedli:

- nedostatok vzdelávacích materiálov, ktoré si preto učitelia musia vyrábať sami (83 %),
- fakt, že učitelia nedostávajú ponuky na vzdelávanie pre zvyšovanie svojej odbornosti (67 %),
- častú fluktuáciu učiteľov (28 %).

Nasledujúce postrehy riaditeľov škôl ako „nedostatočná materiálna a metodická podpora od relevantných inštitúcií,“ „klesajúca úroveň učebných schopností študentov a ich nepripravenosť zo základných škôl,“ „nedostatok lektorov a žiadna pomoc pri ich zabezpečovaní a finančnom ohodnotení,“ či fakt, že „učebnice pre všeobecno-vzdelávacie predmety v anglickom jazyku platí škola z iných prostriedkov ako zo štátneho rozpočtu,“ sú pre nás tiež veľmi významné.

Podľa dotazníka vypracovaného pre učiteľov prírodovedných predmetov anglických bilingválnych gymnázií až 90 % učiteľov ako zdroj pri vyučovaní používa vlastné materiály pozbierané z rôznych zdrojov. Pomerne veľká skupina učiteľov používa aj anglické učebnice (71 %), alebo si prekladá časti slovenských učebníc do angličtiny (54 %). Takmer 83 % učiteľov považuje časovú náročnosť na prípravu za najnáročnejšiu stránku bilingválneho vyučovania. Nedostatok vhodných kompletných materiálov vníma ako problém 63 % a neistotu pri používaní anglického jazyka 24 % respondentov. Takmer 10 % učiteľov pociťuje nedostatočnú podporu zo strany vedenia škôl.

Za najväčšie úskalia práce začínajúceho učiteľa prírodovedných predmetov v anglickom jazyku boli opäť najčastejšie označované nasledovné body: práčne vyhľadávajúce vhodné materiály (75 %), používanie odbornej anglickej terminológie (46 %) a prirodzené používanie angličtiny pri vyučovacom procese (44 %). Problémy s anglickým názvoslovím označilo 24 % respondentov.

Pri otázke, či učitelia mali niekedy možnosť zúčastniť sa odbornej jazykovej prípravy pre učiteľov prírodovedných predmetov takmer 27 % označilo odpoveď „áno“ a 73 % odpoveď „nie“.

Takmer 87 % respondentov (55,3 % „určite áno“ a 31,6 % „asi áno“) by malo záujem zúčastniť sa wor-

kshopy pre učiteľov prírodovedných predmetov v snahe zdokonaľiť si svoje odborné i jazykové zručnosti.

Analýza výsledkov sémantického diferenciálu

Dáta z tretej časti dotazníkov boli spracované pomocou počítačového programu Statistica. Na základe faktorovej analýzy s rotáciou Varimax boli extrahované tri faktory (dimenzie), ktoré sme pomenovali tak, aby čo najlepšie vystihovali celú skupinu zoskupených adjektív (Tab. 2). Faktor 1 – emocionálne uspokojenie obsahuje 8 dvojíc adjektív, Faktor 2 – náročnosť 2 dvojice adjektív a Faktor 3 – zrozumiteľnosť obsahuje 4 dvojice adjektív. Faktor 1 bol najsilnejší a predstavoval až 52 % rozptylu, Faktor 2 11,75 % rozptylu a Faktor 3 predstavoval 7,67 % rozptylu. Zvyšných 6 dvojíc bipolárnych adjektív nebolo faktorovou analýzou vyhodnotených ako dostatočne významných (s nedostatočnou hodnotou faktorovej záťaže) a preto do troch extrahovaných faktorov neboli zaradené.

Pri vyhodnocovaní výsledkov sémantického diferenciálu sme sa zamerali na základné štatistické ukazovatele – aritmetický priemer, medián a smerodajnú odchýlku. Tieto ukazovatele boli vypočítané pre jednotlivé položky aj dimenzie sémantického diferenciálu (Tab. 3 a Tab. 4).

Tab. 2 Výsledky faktorovej analýzy – faktorové záťaže jednotlivých položiek sémantického diferenciálu.“

	1. emocionálne uspokojenie	2. náročnosť	3. zrozumiteľnosť
1. emocionálne uspokojenie			
vzrušujúca/nudná	0,78	-0,04	0,14
prospešná/bezvýznamná	0,70	0,08	0,50
spôsobujúca radosť/naháňajúca strach	0,73	0,28	0,21
hodnotná/bezcenná	0,75	0,26	0,38
zaujímavá/jednotvárna	0,88	0,02	0,07
potešujúca/neprijemná	0,86	0,18	0,10
dobrá/zlá	0,76	0,03	0,41
nenásilná/nútená	0,70	0,51	0,21
2. náročnosť			
ľahká/ťažká	-0,13	0,82	0,17
jednoduchá/zložitá	0,06	0,88	0,16
3. zrozumiteľnosť			
jasná/mätúca	0,20	0,25	0,87
systematická/chaotická	0,16	0,18	0,79
zrozumiteľná/nepochopiteľná	0,36	0,43	0,73
zreteľná/nejednoznačná	0,23	0,21	0,86
% rozptylu	52,01	11,75	7,67

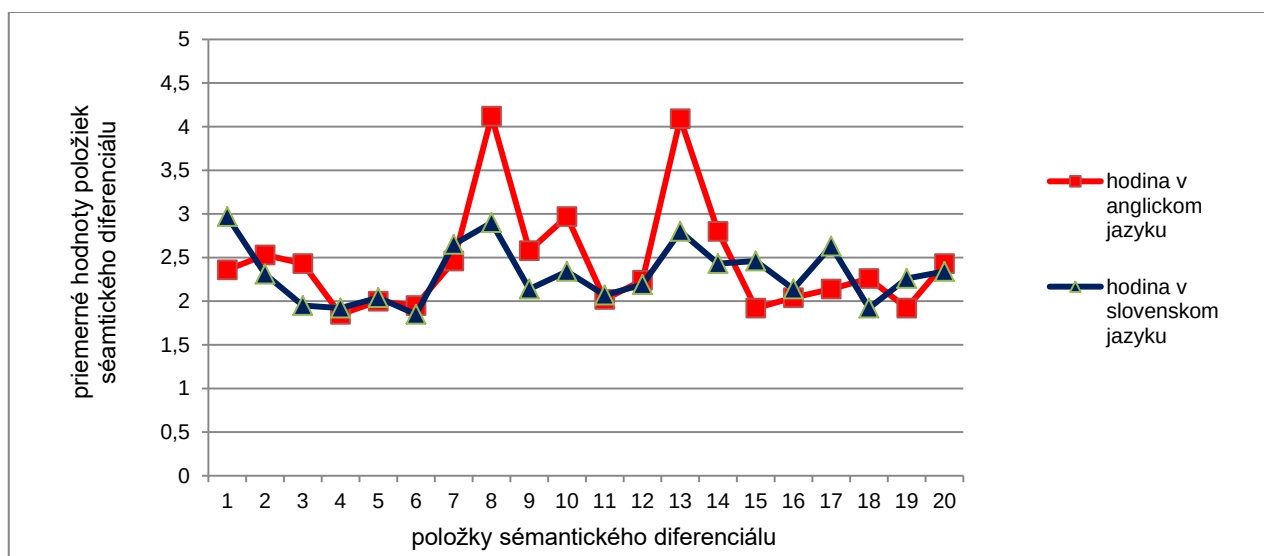
Tab. 3 **Aritmetický priemer (čím nižšia hodnota, tým pozitívnejšie hodnotenie; čím vyššia hodnota, tým negatívnejšie hodnotenie), medián a smerodajná odchýlka pre všetky 20 položiek sémantického diferenciálu.**

	HODINA PRÍRODOVEDNÉHO PREDMETU V ANGLICKOM JAZYKU			HODINA PRÍRODOVEDNÉHO PREDMETU V SLOVENSKOM JAZYKU		
	aritmetický priemer	medián	smerodajná odchýlka	aritmetický priemer	medián	smerodajná odchýlka
1. vzrušujúca/nudná	2,36	2	1,26	2,97	3	1,49
2. uvoľnená/napätá	2,53	2	1,32	2,31	2	1,06
3. jasná/mätúca	2,43	2	1,22	1,95	2	0,99
4. priateľská/neprívetivá	1,85	1	1,06	1,92	2	1,03
5. prospešná/bezvýznamná	2	2	1,09	2,04	2	1,09
6. systematická/chaotická	1,95	2	1,07	1,85	2	0,99
7. spôsobujúca radosť/ naháňajúca strach	2,46	2	1,16	2,65	2	1,39
8. ľahká/ťažká	4,12	4	1,57	2,90	3	1,49
9. zrozumiteľná/nepochopiteľná	2,58	2	1,16	2,14	2	1,21
10. komfortná/nepohodlná	2,97	3	1,54	2,34	2	1,40
11. hodnotná/bezcenná	2,02	2	1,25	2,07	2	1,27
12. neškodná/nebezpečná	2,24	2	1,22	2,19	2	1,36
13. jednoduchá/zložitá	4,09	4	1,43	2,80	2	1,55
14. prijateľná/frustrujúca	2,80	3	1,36	2,43	2	1,36
15. zaujímavá/jednotvárna	1,92	2	1,01	2,46	2	1,53
16. bezpečná/rizikantná	2,04	2	1,05	2,14	2	1,27
17. potešujúca/nepríjemná	2,14	2	1,06	2,63	3	1,44
18. zreteľná/nejednoznačná	2,26	2	1,28	1,92	2	0,98
19. dobrá/zlá	1,92	2	1,06	2,26	2	1,24
20. nenásilná/nútená	2,43	2	1,48	2,34	2	1,57

Nasledujúci graf znázorňuje celkový prehľad postojov respondentov ku skúmaným pojmom prostredníctvom aritmetických priemerov hodnôt jednotlivých položiek (dvojíc bipolárnych adjektív). Z grafu je zjavné, že respondenti celkovo hodnotia oba pojmy pozitívne – hodinu prírodovedného predmetu v anglickom jazyku v intervale [1,85-4,12] a hodinu prírodovedného predmetu v

slovenskom jazyku v intervale [1,85-2,97]. Najvýraznejšie odchýlky od pozitívnej časti hodnotiacej škály sa prejavili len pri hodnotení položiek ľahká/ťažká a jednoduchá/zložitá (č. 8; 4,12 a č. 13; 4,09) pri pojme hodina prírodovedného predmetu v anglickom jazyku, čo sú však stále hodnoty vyjadrujúce neutrálny postoj.

Graf 1 **Priemerné hodnoty jednotlivých položiek sémantického diferenciálu pre oba pojmy – hodina prírodovedného predmetu v anglickom jazyku a hodina prírodovedného predmetu v slovenskom jazyku**



Najvýraznejšie rozdiely v priemeroch pri hodnotení pojmov hodina prírodovedného predmetu v anglickom a v slovenskom jazyku boli zaznamenané u položiek zaujímavá/jednotvárna (č. 15; 0,54), komfortná/nepohodlná (č. 10; 0,63), ľahká/ťažká (č. 8; 1,22) a jednoduchá/zložitá (č. 13; 1,29) pričom u všetkých týchto položiek (okrem zaujímavá/jednotvárna) bolo hodnotenie pozitívnejšie v prípade slovenského jazyka.

Na základe aritmetických priemerov vypočítaných pre všetky tri dimenzie môžeme konštatovať, že vyučovanie prírodovedného predmetu v anglickom jazyku je respondentmi považované za náročnejšie a menej zrozumiteľné ako v jazyku slovenskom. Napriek tomuto konštatovaniu je ale emocionálne uspokojenie učiteľov vyučujúcich predmet v anglickom jazyku mierne lepšie ako v prípade slovenského jazyka (Tab. 4)

Tab. 4 Aritmetický priemer troch dimenzií pri pojmach hodina prírodovedného predmetu v anglickom jazyku a hodina prírodovedného predmetu v slovenskom jazyku (menšia hodnota – pozitívnejší postoj, vyššia hodnota – negatívnejší postoj).“

	Hodina v anglickom jazyku (aritmetický priemer dimenzie)	Hodina v slovenskom jazyku (aritmetický priemer dimenzie)	Rozdiel priemerov
emocionálne uspokojenie	2,16	2,43	0,27
náročnosť	4,11	2,85	1,26
zrozumiteľnosť	2,31	1,97	0,34

Pri hodnotení pojmu hodina prírodovedného predmetu v anglickom jazyku boli najpozitívnejšie hodnotené položky: priateľská/neprívetivá (č. 4; 1,85), zaujímavá/jednotvárna (č. 15; 1,92) a dobrá/zlá (č. 19; 1,92) a pri hodnotení pojmu hodina prírodovedného predmetu v slovenskom jazyku sa respondenti vyjadrovali najpozitívnejšie k položkám: systematická/chaotická (č. 6; 1,85), priateľská/neprívetivá (č. 4; 1,92) a zreteľná/nejednoznačná (č. 18; 1,92).

Na druhej strane pri hodnotení pojmu hodina prírodovedného predmetu v slovenskom jazyku bola prekvapujúco najnegatívnejšie hodnotená položka vzrušujúca/nudná (č. 1; 2,97) zatiaľ čo v anglickom jazyku ľahká/ťažká (č. 8; 4,12). Je ale zaujímavé, že pri oboch pojmach boli položky: ľahká/ťažká (č. 8; 4,12 v anglickom jazyku a 2,9 v slovenskom jazyku) a jednoduchá/zložitá (č. 13; 4,09 v anglickom jazyku a 2,8 v slovenskom jazyku) v trojici najnegatívnejšie hodnotených položiek bez ohľadu na jazyk, v ktorom vyučovanie prebieha.

Záver

V súčasnom globalizovanom svete je ovládanie cudzích jazykov považované za nevyhnutnosť. Vstupom Slovenska do EÚ sa aj našim občanom otvorili nové možnosti, ako napr.: voľný pohyb osôb, zaujímavé pracovné možnosti a možnosti cestovania či štúdia v zahraničí a preto aj naše školstvo reagovalo na tieto zmeny zavádzaním bilingválnych škôl. Zatiaľ čo počet bilingválnych základných a stredných odborných škôl je zanedbateľný, počet gymnázií ponúkajúcich bilingválne vzdelávanie neustále narastá.

Napriek narastajúcemu záujmu o tento typ vzdelávania, vedenie bilingválnych gymnázií stále čelí problémom so získavaním kvalifikovaných učiteľov, ktorí by spĺňali odborné i jazykové predpoklady. Navyše, vedenie škôl i

samotní učitelia nedostávajú takmer žiadnu materiálnu či metodickú podporu od relevantných inštitúcií, čo len zvyšuje tlak na samotných učiteľov a vedie k ich zvýšenej fluktuácii. Tieto skutočnosti boli potvrdené aj naším výskumom. Výsledky dotazníkovej metódy poukazujú na fakt, že až 90 % učiteľov používa pri vyučovaní vlastné materiály zozbieraných z rôznych zdrojov a až takmer 83 % učiteľov považuje časovú náročnosť na prípravu za najnáročnejšiu stránku bilingválneho vyučovania. Približne 24 % učiteľov uviedlo, že stále pociťujú neistotu pri používaní anglického jazyka pričom na začiatku svojho pôsobenia v bilingválnom vzdelávaní malo až 46 % problémy s používaním odbornej anglickej terminológie a 44 % s prirodzeným používaním angličtiny pri vyučovacom procese.

Tieto tendencie boli potvrdené aj metódou sémantického diferenciálu, ktorá ukázala, že tí istí učitelia považujú vyučovanie prírodovedného predmetu za náročnejšie a aj menej zrozumiteľné v anglickom jazyku v porovnaní s jazykom slovenským. Avšak treba podotknúť, že toto vnímanie učiteľov nebolo označené ako vyslovene negatívne, ale pohybovalo sa stále len v neutrálnej rovine. Napriek tomu je ale zaujímavé, že učitelia pociťujú mierne väčšie emocionálne uspokojenie pri vyučovaní prírodovedných predmetov v anglickom jazyku ako pri vyučovaní v jazyku slovenskom, ktoré zároveň považujú aj za menej vzrušujúce a jednotvárnejšie.

Celkovo však možno konštatovať, že bez ohľadu na vyučovací jazyk je postoj učiteľov z praxe k vyučovaniu prírodovedných predmetov veľmi pozitívny a aj napriek problémom, s ktorými sa dennodenne stretávajú, vo svojej práci vidia zmysel a vykonávajú ju s radosťou a potešením.

Vzhľadom na to, že riaditelia škôl pociťujú výrazný nedostatok kvalifikovaných učiteľov v bilingválnych programoch aj nedostatok ponúk pre učiteľov prírodoved-

ných predmetov v anglickom jazyku na ďalšie vzdelávanie, je potrebné pripraviť systém pregraduálneho a postgraduálneho vzdelávania zameraného na zdokonaľovanie odborných aj jazykových zručností učiteľov prírodovedných predmetov (takmer 87 % respondentov prejavilo o takého vzdelávanie záujem).

Predovšetkým by sa mali prírodovedecké fakulty zamerať na intenzívnejšiu didaktickú a jazykovú prípravu budúcich učiteľov v snahe uľahčiť im ich začiatok potencionálnej kariéry učiteľa na bilingválnych gymnáziách. Myslíme si, že vytvorenie voliteľného predmetu zameraného na vyučovanie prírodovedného predmetu v cudzom jazyku by mohlo mať pozitívnu odozvu minimálne u študentov kombinácií prírodovedného predmetu s cudzím jazykom. Overenie uvedeného predpokladu, jazykových schopností i záujmu o intenzívnejšiu jazykovú prípravu bude súčasťou ďalšieho výskumu zameraného práve na študentov všeobecne-vzdelávacích predmetov na Prírodovedeckej fakulte UK v Bratislave.

Literatúra

CVTISR. (2018). *Štatistická ročenka – gymnáziá*. Dostupné na Internet: http://www.cvtisr.sk/cvti-sr-vedecka-kniznica/informacie-o-skolstve/statistiky/statisticka-rocenka-publikacia.html?page_id=9580.

EK. (16. 3 2012). *Eurobarometer - tlačová správa, 2012*. [online]. In: *Europa web portal* [cit.2018-03-16]. Dostupné na Internet: http://europa.eu/rapid/press-release_IP-12-679_sk.htm.

European White Paper on Education and Training Towards the Learning Society, 1. (1996). *European White Paper on Education and Training Towards the Learning Society, 1996*. Dostupné na Internet: Dostupné na: (CVTISR, 2018) http://europa.eu/documents/comm/white_papers/pdf/com95_590_en.pdf.

GAVORA, P. a. (2010). *Elektronická učebnica pedagogického výskumu*. Bratislava : Univerzita Komenského, 2010. Dostupné na: ISBN 978–80–223–2951–4. Dostupné na Internet: <http://www.e-metodologia.fedu.uniba.sk/>.

GONDOVÁ, D. (2013). *Aktívne učenie sa žiakov v CLIL-e*. Bratislava: Metodicko-pedagogické centrum, 2013. ISBN 978-80-8052-480-7.

komisia., E. (16. 03 2012). *Eurobarometer - tlačová správa, 2012*. Dostupné na Internet: : *Europa web portal* [cit.2018-03-16].

KUBIATKO, M. (2016). *Sémantický diferenciál jako jedna z možností zkoumání postojů k chemii u žáků druhého stupně základních škol*. *Scientia in educatione – Scientific Journal for Science and Mathematics Educational Research*, vol.7, no. 1, 2016, pp. 2–15., ISSN 1804-7106 . Dostupné na Internet: <http://www.scied.cz/index.php/scied/article/view/277>.

PROKŠA, M., & HELD L., a. k. (2008). *Metodológia pedagogického výskumu a jeho aplikácia v didaktikách prírodovedných vied*. Bratislava : Bratislava: Univerzita Komenského, 2008. ISBN 978-80-223-2562-2.

URBÁNEK, T. Z. (2002). *Základy psychometrie*. Brno: MU, 2002. ISBN 80-210-2797-5.

K výsledkom prieskumu používania učebníc biológie pre 7. ročník

PaedDr. Mariana Páleniková¹

RNDr. Soňa Nagyová, PhD.²

¹Štátny pedagogický ústav
Pluhová 8, 831 03 Bratislava
Slovensko

²Katedra didaktiky prírodných vied, psychológie
a pedagogiky
Prírodovedecká fakulta
Univerzita Komenského v Bratislave
Ilkovičova 6, 84215 Bratislava
Slovensko

Abstract

The National Institute of Education has conducted a survey on the use and suitability of textbooks for science education in primary and secondary schools from the point of view of teachers. The survey was carried out as a response to teachers' reactions on the quality of textbooks currently used in schools. Its aim was to determine the state of use of textbooks approved by the Ministry of Education since 2008 in subjects such as mathematics, informatics, physics, biology, geography, chemistry, and technology as one of the starting points for the re-approval process.

Key words

science education, textbooks, teachers

Úvod

Často počujeme, ako sú učitelia nespokojní s učebnicami – aj biológiou. Štátny pedagogický ústav na základe ohlasov pedagogickej verejnosti na kvalitu aktuálne platných učebníc uskutočnil prieskum využívania a vhodnosti učebníc prírodovedných predmetov v základných a stredných školách z pohľadu učiteľov. Jeho cieľom bolo zistiť stav využívania učebníc predmetov matematika, informatika, fyzika, chémia, biológia, geografia, technika so schvaľovacou doložkou od roku 2008 ako jedno z východísk k opätovnému schvaľovaciemu procesu.

V tomto článku priblížime výsledky monitorovania využívania vhodnosti učebnice Biológia pre 7. ročník základnej školy a 2. ročník gymnázia s osemročným štúdiom od autorov PaedDr. Mária Uhreková, PhD., Ing. Iveta Trévaiová, Mgr. Angelika Matľáková, RNDr. Zuzana Píknová, Mgr. Andrej Sitár, Mgr. Ida Hantabálová, PaedDr. Katarína Čumová, RNDr. Veronika Zvončeková.

Monitorovanie využívania vhodnosti učebnice biológie pre 7. ročník základnej školy a 2. ročník gymnázia s osemročným štúdiom

Na prieskum sme použili neštandardizovaný **dotazník** v elektronickej forme bez vstupných identifikačných

údajov. Informácia a odkaz na dotazník, ktorý mali učitelia vyplniť, boli zaslané na každú školu elektronickou poštou. Súčasne boli dotazníky prístupné na webovom sídle ŠPÚ. Dotazník bol anonymný. Učitelia mali možnosť vyjadriť svoj názor na odbornosť, textovú časť, úlohy, grafickú stránku učebníc na základe ponúknutých možností (uzatvorené položky) a celkovo ich mohli zhodnotiť aj svojimi slovami, prípadne napísať návrhy na zlepšenie.

Cieľovú skupinu tvorili učitelia, ktorí v príslušnom ročníku daný predmet aktuálne učili, alebo ho učili v predchádzajúcom školskom roku (bez sledovania ďalších ukazovateľov ako odbornosť, dĺžka pedagogickej praxe a pod.).

Do prieskumu sa zapojilo 284 učiteľov z celkového počtu 1 458 základných škôl s triedami 2. stupňa a 150 gymnázií s osemročným vzdelávacím programom. Napriek tomu, že boli oslovené všetky základné školy, účasť učiteľov bola veľmi nízka. Nedostatočnú účasť učiteľov na prieskume si vysvetľujeme niekoľkými možnými príčinami:

- oznámenie o prieskume bolo na školy posielané elektronickou poštou – niektoré školy nemajú v oficiálnych zoznamoch škôl aktualizovanú e-mailovú adresu, preto im oznámenie nebolo doručené,
- časť adresátov (vedenie školy, administratívna pracovníčka) neposunula túto informáciu príslušným učiteľom,
- učitelia už nemajú záujem zúčastňovať sa na podobných prieskumoch a výskumoch,
- učitelia sa nevedeli k otázkam dotazníka vyjadriť, pretože danú učebnicu nepoužívali, nevedeli identifikovať dôvody.

Uvedomujeme si, že nepoznáme presné počty učiteľov, ktorí vyučujú biológiu v danom školskom roku. Ak by sme sa však chceli priblížiť k reprezentatívnej vzorke, potrebovali by sme, aby sa k učebnici vyjadrilo cca 1 023 učiteľov pre 2. stupeň základných škôl a 180 učite-

ľov gymnázií, čo predstavuje 70 % z celkového počtu škôl daného stupňa vzdelávania. **Vzhľadom na nízky počet odpovedí môžeme výsledky zrealizovaného prieskumu pokladať len za informatívne, nezáväzné pre ďalšie hodnotenie kvality učebnice.**

Výsledky prieskumu

Jedným z cieľov monitorovania bolo sledovanie *miery používania* učebnice. Môžeme konštatovať, že ju používajú takmer všetci učitelia (100 %), ktorí sa k nej v dotazníku vyjadrili. Učebnicu používajú učitelia (viac ako 92,2 %) v priebehu viacerých častí vyučovacej hodiny, pričom takmer všetci s ňou pracujú na vyučovacej hodine spolu so žiakmi a asi polovica z nich ju využíva aj na domácu prácu žiakov.

Následne sme chceli získať názor učiteľov na kvalitu učebnice, jej odborné, didaktické a grafické spracovanie, názor na systém úloh v učebnici. Z pohľadu 21,1 % učiteľov sa v učebnici nachádzajú *odborné chyby*. Tento údaj môže byť skreslený z rôznych príčin: učitelia, ktorí sa zapojili do prieskumu, sú väčšinou tí, ktorí sú s danou učebnicou nespokojní; učitelia neposudzovali aktuálne vydanie učebnice (najnovšie vydanie sa nenachádza na každej škole); často učitelia pokladajú za chyby aj také, ktoré reálne chybami nie sú. Podľa 79,2 % učiteľov je učebnica spracovaná tak, že podnecuje záujem žiakov o danú tému. V súvislosti s *grafickou úpravou* vyznieva hodnotenie učebnice učiteľmi pozitívne. S množstvom (93,7 %) a výberom (97,9 %) obrázkov sú spokojní. Približne tri štvrtiny učiteľov (72,9 %) by uvítali register pojmov. Prevažne kladné sú vyjadrenia učiteľov k množstvu (83,5 %) a rozmanitosti *úloh* (83,1 %), považujú ich za primerané. Celkovo učitelia ohodnotili kvalitu učebnice priemernou známkou 1,92. Domnievame sa, že vzhľadom na uvedené skutočnosti je táto klasifikácia pozitívna.

Konkrétne výsledky prieskumu učebnice Biológia pre 7. ročník základnej školy a 2. ročník gymnázia s osemročným štúdiom ako aj výsledky prieskumu ďalších monitorovaných učebníc sa nachádzajú na webovom sídle ŠPÚ v sekcii *Vzdelávanie / Výskumné úlohy*:

<http://www.statpedu.sk/sk/vzdelavanie/vyskumne-ulohy/>
V priebehu procesu prieskumu bola učebnici vydaná schvaľovacia doložka s platnosťou tri roky, t. j. do 11. februára 2019. Čiastkové výsledky monitorovania tvorili jeden z podkladov, ktoré vplývali na proces ďalšieho schvaľovania učebnice – respektíve jej reedície.

V školskom roku 2017/2018 sa žiakom a učiteľom dostane do rúk ďalšie vydanie učebnice, v ktorom sú zapracované opodstatnené pripomienky učiteľov a upravené tak, aby bola učebnica v súlade s iŠVP.

Tento pilotný prieskum v oblasti evalvácie učebníc naznačil potrebu permanentného hodnotenia učebníc i ostatných materiálo-didaktických prostriedkov, ktoré

využívajú žiaci i učitelia vo výchovno-vzdelávacom procese. Na základe naznačených nedostatkov, prípadne opodstatnených výhrad učiteľov je potrebné v podobných prieskumoch pokračovať a následne sa adresnejšie sústrediť na ich odstránenie.

Zdroje

Štatistická ročenka – základné školy, 2015/2016 [online]. MŠVVaŠ SR, CVTI. 2015. [cit. 2015.09.15]. Dostupné na internete: http://www.cvtisr.sk/cvti-sr-vedecka-kniznica/informacie-a-prognozy-skolstva/statistiky/statisticka-rocenka-publikacia/statisticka-rocenka-zakladne-skoly.html?page_id=9601
Štatistická ročenka – gymnázium, 2015/2016 [online]. MŠVVaŠ SR, CVTI. 2015. [cit. 2015.09.15]. Dostupné na internete: http://www.cvtisr.sk/cvti-sr-vedecka-kniznica/informacie-a-prognozy-skolstva/statistiky/statisticka-rocenka-publikacia/statisticka-rocenka-gymnazia.html?page_id=9599

Literatúra

MAŇÁK, J. 2008. *Funkce učebnice v moderní škole*. In.: Učebnice z pohľadu pedagogického výskumu, Brno: MŠMT ČR, 2008; s. 19 – 26. ISBN 978-80-174-4.
MIKK, J. 2008. *Učebnice: budoucnost národa*. In.: Hodnocení učebnic, Brno: MŠMT ČR, 2007; s. 11 – 23. ISBN 978-80-7315-148-5.

SÚ „vzácne“ ochorenia vzácne?

Metabolomika a jej nástroje v personalizovanej medicíne

RNDr. Renáta Górová, PhD.¹

doc. RNDr. Ivan Ostrovský, CSc.²

RNDr. Gabriela Addová³

RNDr. Helena Jurdáková, PhD.⁴

^{1,2,3,4}Chemický ústav, Prírodovedecká fakulta
Univerzita Komenského v Bratislave
Ilkovičova č. 6, 842 15 Bratislava
Slovensko

¹renata.gorova@uniba.sk

Abstract

Rare disease is a chronic and severe disease which affects less than 1 person per 2000. However, the number of rare diseases is known to be over 7000 and worldwide they affect more than 350 million people. According to the number of different rare diseases, the relatively small number of patients suffering from a particular disease, and the possible wide variety of clinical signs for a particular disease, the choice of appropriate diagnostic and therapeutic strategies requires a specific approach, optimally to the individual level. It represents likely the future of healthcare and is known as personalized medicine. Metabolomics is the key tool for biomarker discovery and in combination with genomics and proteomics can significantly improve the understanding the disease mechanisms.

Key words

rare disease, metabolomics, personalized medicine

Úvod

Personalizovaná medicína je aktuálny trend vývoja ľudskej medicíny, pri ktorom je jednotlivec charakterizovaný svojím jedinečným fenotypom (súbor vonkajších znakov organizmu) a genotypom (súbor génov organizmu). Na tento účel sa využívajú predovšetkým metódy na získavanie molekulárneho profilu, lekárske zobrazovacie techniky a ďalšie medicínske údaje o jednotlivcovi, ktoré ho charakterizujú. Takýto komplexný súbor údajov potom umožňuje určiť pre konkrétneho jedinca jeho predispozíciu pre príslušné ochorenie, odporučiť a včas poskytnúť ciele prevenciu a stanoviť správnu terapeutickú stratégiu v správnom čase (Gülbakan, 2016; Jacob 2017). Tento prístup má nezastupiteľné miesto najmä v prípade tzv. vzácných ochorení.

Charakteristika vzácných ochorení

Vzácné ochorenia, známe aj pod označením zriedkavé sú chronické, život ohrozujúce ochorenia s veľmi nízkou prevalenciou. Za nízku prevalenciu sa pritom považuje situácia, keď sa príslušné ochorenie vyskytuje v miere menšej ako 5 prípadov na 10 000 obyvateľov. 80 % vzácných ochorení má genetický pôvod, teda sú spôsobené prítomnosťou abnormality v genóme človeka, pričom väčšina geneticky podmienených zriedkavých ochorení je výsledkom mutácie v jednom gène. Zriedkavé ochorenia sa manifestujú prevažne v detskom

veku, keďže 5 z 10 ochorení postihuje deti, vzplanutie ochorenia je však možné v každom veku. Závažnosť týchto ochorení dokumentuje fakt, že 3 z 10 pacientov sa nedožijú 5. roku života a 3 z 10 pacientov nemôžu navštevovať školu (<http://sazch.sk>).

Medzi najznámejšie a najčastejšie zriedkavé ochorenia patria napríklad fenylketonúria a cystická fibróza. Fenylketonúria je dedičné metabolické ochorenie charakteristické čiastočnou alebo úplnou neschopnosťou organizmu metabolizovať aminokyselinu fenylalanín, ktorý je súčasťou bielkovín prijímaných v potrave. Podmienkou liečby je prísna celoživotná diéta, v prípade neliečenia ochorenia dochádza u pacientov k poruche intelektu, správania a motoriky. Cystická fibróza je spôsobená poruchou prenosu Na^+ a Cl^- cez bunkovú membránu a deti trpiace týmto ochorením sa zvyknú nazývať ako slané deti. Ochorenie sa prejavuje chronickým progresujúcim poškodením dýchacích ciest, pľúc, pankreasu a iných vnútorných orgánov. Obidve ochorenia sú vrodené a dedia sa autozomálne recesívne, čo znamená, že dieťa môže zdediť ochorenie od matky aj od otca, pričom postihnutý gén musí zdediť od oboch rodičov, aby sa choroba vyvinula. Vyšetrenie na fenylketonúriu aj cystickú fibrózu je na Slovensku súčasťou celoplošného skríningu novorodencov.

V súčasnosti je v skupine vzácných ochorení známych viac ako 7000 individuálnych ochorení, pričom vďaka intenzívnemu výskumu neustále pribúdajú nové. Napriek nízkej prevalencii jednotlivých ochorení, s ohľadom však na ich početnosť vzácne ochorenia ovplyvňujú počas života 6 – 8 % populácie. Z uvedeného vyplýva, že celkový počet pacientov v Európskej únii, ktorí trpia niektorou z nich, je na úrovni 27 – 36 miliónov. Väčšina z nich pritom trpí ochorením, ktoré sa vyskytuje s frekvenciou 1 prípad na 100 000 obyvateľov alebo dokonca nižšou a v mnohých prípadoch nedostatočne charakterizovaným. Z dôvodu vzácnosti ich ochorenia sú títo pacienti vystavení odlúčenosti, izolovanosti, sú bezbranní a zraniteľní. Preto si vzácne ochorenia vyžadujú komplexný prístup spoločnosti, od ich charaktéri-

zácie súčasnými vedeckými metódami, až po starostlivosť o pacientov, ktorí niektorou z nich trpia (COUNCIL RECOMMENDATION of 8 June 2009 on an action in the field of rare diseases 2009/C 151/02). S ohľadom na komplexnosť problematiky platia pre súčasný stav v oblasti vzácných ochorení nasledovné charakteristiky (European Project for Rare Diseases National Plans Development EUROPLAN, 2012 – 2015).

<http://www.europlanproject.eu/>):

- všeobecný nedostatok znalostí a vedomostí o vzácných ochoreniach,
- heterogénna skupina ochorení s malým počtom pacientov pre každé z nich,
- veľká skupina pacientov trpiaca neurometabolickými symptómami,
- komplikovaná diagnostika vyžadujúca komplexné konzultácie odborníkov,
- oneskorená diagnostika, keď 1 zo 4 pacientov čaká na správnu diagnózu 30 rokov,
- mnohé nediagnostikované prípady sú fatálne,
- len približne 100 zriedkavých ochorení je liečiteľných,
- 1 zo 6 pacientov podstúpil operáciu na základe nesprávnej diagnózy.

Vzácné ochorenia boli jednou z priorít EÚ v 6. i 7. rámcovom programe pre výskum a vývoj a sú aj súčasťou programu Horizon 2020. Pozornosť sa zameriava na vývoj nových diagnostických a terapeutických postupov pre vzácné ochorenia a na organizáciu príslušných epidemiologických štúdií. Takýto komplexný prístup si s ohľadom na charakter vzácných ochorení vyžaduje aj komplexné zapojenie krajín EÚ do riešenia tejto problematiky (Decision No 1982/2006/EC of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 concerning the Seventh Framework Programme of the European Community for research, technological development and demonstration activities (2007-2013) OJ L 412, 30.12.2006, p. 1; Horizon 2020, Work Programme 2016 – 2017, 8. Health, demographic change and well-being, European Commission Decision C, 2017, 2468 of 24 April 2017).

Aktuálny príspevok Slovenskej republiky k tejto problematike spočíva v realizácii Národného programu rozvoja starostlivosti o pacientov so zriedkavými chorobami v Slovenskej republike na obdobie rokov 2016 – 2020 (Uznesenie vlády SR č. 671 z 9. decembra 2015 „k Národnému programu rozvoja starostlivosti o pacientov so zriedkavými chorobami v Slovenskej republike na obdobie rokov 2016 – 2020“).

Výskum vzácných ochorení sa (nielen) v EÚ sústreďuje dnes predovšetkým na:

- identifikáciu príslušných génov,
- stanovenie patologických mutácií,
- molekulárnu klasifikáciu,

- hľadanie vhodných biomarkerov,
- vývoj nových diagnostických a terapeutických postupov,
- zriaďovanie vysoko kvalitných biobáň vzoriek,
- registre pacientov.

Medzi kľúčové oblasti výskumu vzácných ochorení patrí práve molekulárna klasifikácia a hľadanie vhodných biomarkerov týchto ochorení. V ich rámci sa skúma prienik viacerých charakteristík na molekulárnej úrovni a hľadajú sa kombinácie metabolitov, regulátorov transkripcie a peptidov vhodné na identifikáciu a charakterizáciu príslušného vzácného ochorenia (Ferlini, 2013; Scotton, 2016).

Metabolomika

Metabolomika je teda jednou z rozhodujúcich súčastí výskumu vzácných ochorení, ktoré predstavuje ucelené systematické štúdium originálneho chemického zloženia – produktov metabolických premien (metabolitov) v biologických systémoch („chemického odtlačku prstov“) (Glassbrook, 2000; Fiehn, 2000). Metabolomika je najmladší člen rodiny „omík“ (proteomika, genomika). Pre metabolomiku je charakteristické (Johnson, 2015), že:

- skúma metabolóm, t.j. molekuly v rozsahu <1500 da, ktoré sú výsledkom biochemických reakcií v organizme,
- umožňuje sledovať metabolické dráhy látok v reálnom čase,
- dobre odzrkadľuje aktuálny stav metabolizmu bunky, tkaniva a orgánu, premietnutím genotypu a environmentálnych vplyvov na fenotyp.

Z uvedeného vyplýva unikátny charakter metabolómu ako zdroja molekúl, ktoré kvalitatívne aj kvantitatívne umožňujú opísať a charakterizovať mechanizmus ochorenia a jeho biochemickú podstatu. Metabolity historicky patria medzi klinické koncovky, ktoré umožňujú lekárom diagnostikovať ochorenie a charakterizovať ho (Vinayavekhin, 2010). Už najstaršie písomné záznamy z obdobia faraónov zaznamenávajú využívanie ľudského dychu, t.j. metabolitov v ňom, na identifikáciu a charakterizáciu ochorení pomocou senzorických vnemov. Súčasné analytické metódy toto subjektívne meranie objektivizujú až na úroveň jednotlivých molekúl a ich skupín, zásadne zvyšujú presnosť a správnosť meraní, a tým ich spoľahlivosť a rozširujú počet všetkých dostupných matric na všetky organické tkanivá, plyny a tekutiny. Hlavnými prednosťami metabolomiky sú:

- Prednostne neinvazívny odber vzoriek. V oblasti dedičných metabolických porúch, ale i v celej oblasti vzácných ochorení sa ako vzorka preferuje suchá kvapka krvi, keďže odber kapilárnej krvi sa považuje za neinvazívnu metódu odberu biologického materiálu. Odber sa robí z prsta

alebo u malých detí z päty na štandardizovaný odberový papier (obrázok 1).

- Detekcia prítomnosti markerov a ich zmien v metabolóme bunky.
- Možnosť vývoja nových diagnostických postupov založených na metabolomických analýzach, stanovenie diagnóz a sledovanie aktuálneho ochorenia.
- Identifikácia ovplyvnených biochemických dráh využiteľná pri vývoji príslušných liekov a ako súčasť manažmentu vzácnych ochorení.

Obr. 1 **Odber kapilárnej krvi na štandardizovaný odberový papier.** (<https://www.spotonsciences.com/knowledge-center/dbs-technology/>)



Stratégia metabolomického výskumu

Metabolomický výskum sa delí na ciele a neciele analýzy.

Neciele metabolomické analýzy sa označujú aj ako „metabolomika budúcnosti“ a majú nasledujúce charakteristiky (Wishart, 2016):

- získanie celkového profilu metabolómu.
- poskytujú neskreslený celkový profil metabolómu vzoriek,
- získané profile sa používajú na štatistické vyhodnotenie odlišností metabolitov prítomných v testovaných a kontrolných vzorkách. Získané rozdiely sú základom pre identifikáciu a charakterizáciu príslušných biomarkerov,
- po určení štatisticky významných metabolitov sa tieto stávajú potenciálnymi biomarkermi pre ochorenie. Nevyhnutná je aj validácia, to znamená overenie presnosti a správnosti získaných výsledkov.

Pokračovaním necielených metabolomických analýz, ktoré produkujú spravidla veľké množstvo dát sú bioinformatické analýzy a prieskum databáz, čo umožňuje

relevantne vyhodnotiť a priradiť získané údaje k príslušným biochemickým dráham súvisiacich s ochorením.

Cielené metabolomické analýzy sú charakteristické (Johnson, 2016):

- analýzou/kvantifikáciou známych metabolitov,
- skúmaním definovaných metabolitov (v rôznych vzorkách) s cieľom stanovenia miery ich zmien,
- vysokou selektivitou, rýchlosťou a citlivosťou analýz, ktoré vyplývajú zo zamerania sa na konkrétne metabolity.

Tento typ analýzy sa používa ako doplnok necielených analýz pri validácii uvažovaných biomarkerov, pri vývoji nových diagnostických postupov založených na nových validovaných metabolitoch ako príslušných biomarkerov, ako aj pri monitorovaní priebehu ochorenia a úspešnosti jeho terapie.

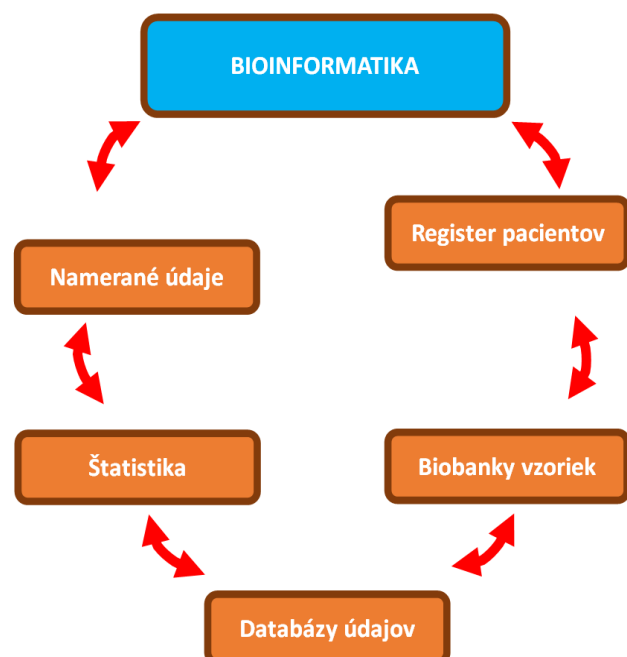
Najvýraznejší rozvoj metabolomiky nastal až s rozšírením moderných kombinovaných analytických systémov umožňujúcich charakterizáciu a individuálnu identifikáciu jednotlivých látok a ich skupín v metabolóme. Komplexnosť metabolómu neumožňuje použitie len jednej analytickej metódy, v praxi sa používa skupina analytických a ďalších metód, pričom určujúce je vzájomné dopĺňanie sa jednotlivých metód a ich výsledkov, zamerané na vytvorenie uceleného obrazu metabolómu.

Z analytických metód dnes v oblasti metabolomických analýz prevažujú metóda nukleárnej magnetickej rezonancie (NMR) (Bingol, 2014) a metóda hmotnostnej spektrometrie (MS) (Patti, 2012) spravidla v kombinácii so separačnými metódami, ako sú napríklad plynová (GC) alebo vysokoúčinná kvapalinová chromatografia (HPLC). NMR a MS spektrometria poskytujú kvalitatívne odlišné výstupy, preto využitím ich kombinácie sa zabezpečí väčší rozsah informácií o analyzovanom metabolóme. Obe skupiny metód majú z hľadiska analýzy metabolómu svoje výhody i nevýhody. Medzi výhody NMR patrí možnosť priamej analýzy vzoriek bez úpravy, možnosť dobrej charakterizácie jednotlivých metabolitov a analýza je nedeštruktívna. Nevýhodou je nízka citlivosť meraní (mM – μ M), potreba väčších objemov vzoriek (desiatky μ L až mL) a veľmi silných magnetov (> 600 MHz) a vysoká cena prístrojov. Výhodou hmotnostnej spektrometrie je vysoká citlivosť GC-MS/HPLC-MS systémov (μ M – nM) a ich selektivita, dávkovanie malých objemov (μ L), možnosť tandemového usporiadania MS-MS bez potreby separačného stupňa, čo je užitočné zvlášť pre humánne štúdie používajúce biologický materiál ako matricu (Bingol, 2015). Pri analýze však dochádza k deštrukcii analytu, teda v prípade sériového zapojenia s nedeštruktívnymi typmi detektorov MS musí byť zapojený ako posledný a v závislosti od konštrukcie hmotnostného detektora jeho cena môže byť tiež pomerne vysoká.

Najmä tandemová hmotnostná spektrometria (MS/MS), čo je spojenie aspoň dvoch hmotnostných analyzátorov a kombinované analytické systémy typu GC-MS/MS a HPLC-MS/MS sú dnes reálnym „zlatým štandardom“ metabolomiky. Kým vo výskume sa tieto metódy používajú primárne v oblasti necielených analýz, v klinickej praxi sa využívajú predovšetkým na cielené analýzy identifikovaných a validovaných biomarkerov. Veľkou výhodou jej využitia je možnosť analýzy biomarkerov viacerých ochorení jedinou analýzou. Zavedenie tandemovej hmotnostnej spektrometrie do diagnostiky dedičných metabolických porúch, najmä porúch metabolizmu aminokyselín a mastných kyselín, znamenalo zásadné rozšírenie a zefektívnenie skríningu a diagnostiky týchto ochorení.

Riadnou súčasťou metabolického výskumu je bioinformatika. Ako ukazuje Schéma 1, bioinformatika predstavuje komplex metód, ktoré zahŕňajú tak namerané údaje z analýz metabolómu, ako aj ich štatistické spracovanie a vyhodnocovanie modernými štatistickými metódami, porovnávanie s existujúcimi databázami údajov, ako aj spoluprácu, výmenu a dopĺňanie biobáň vzoriek a výmenu informácií v rámci registrov pacientov.

Schéma 1 Schéma bioinformatického prístupu v metabolomike



Záver

Metabolomika je kľúčovým nástrojom pri hľadaní biomarkerov, ktoré majú diagnostickú, prognostickú a terapeutickú výpovednú hodnotu. V zhode s aktuálnymi trendami je cieľom, aby biomarker mal súčasne personalizovanú výpovednú hodnotu. Metabolické metódy sú dnes pri výskume, charakterizácii a diagnostike vzácných ochorení vzhľadom na ich početnosť a rôzno-

rodosť nevyhnutnou praxou. Základom sú pritom štandardizované a validované analytické systémy, pozostávajúce z citlivých a selektívnych prístrojových systémov a následné spracovanie získaných dát bioinformatickými metódami. Štúdium súvislostí medzi metabolickými zmenami, fenotypom pacienta, jeho aktuálnym klinickým stavom a liečbou otvára novú éru pre aplikáciu metabolomiky v personalizovanej medicíne.

Literatúra

- BINGOL, K.; BRÜSCHWEILER, R. Multidimensional approaches to NMR-based metabolomics. In: *Anal Chem.* 86, 1, 2014, pp. 47–57.
- BINGOL, K.; BRÜSCHWEILER, R. NMR/MS translator for the enhanced simultaneous analysis of metabolomics mixtures by NMR spectroscopy and mass spectrometry: application to human urine. In: *J Proteome Res.* 14, 6, 2015, pp. 2642–2648.
- FERLINI, A.; SCOTTON, C.; NOVELLI, G. Biomarkers in rare diseases. In: *Public Health Genomics.* 16, 6, 2013, pp. 313–321.
- FIEHN, O.; KOPKA, J.; DORMANN, P.; ALTMANN, T.; TRETHERWEY, R.N.; WILLMITZER, L. Metabolite profiling for plant functional genomics. In: *Nat Biotech.* 18, 11, 2000, pp. 1157–1161.
- GLASSBROOK, N.; BEECHER, C.; RYALS, J. Metabolic profiling on the right path. In: *Nat Biotech.* 18, 11, 2000, pp. 1142–1143.
- GULBAKAN, B.; OZGUL, R.K.; YUZBASIOGLU, A.; KOHL, M.; DEIGNER, H.P.; OZGUC, M. Discovery of biomarkers in rare diseases: innovative approaches by predictive and personalized medicine. In: *EPMA JOURNAL*, 7, 24, 2016, pp. 2–6.
- JACOB M., LOPATA A.L., DASOUKI M., RAHMAN A.M.A. Metabolomics toward personalized medicine. In: *Mass Spec Rev.* 36, 2017, pp 1–18.
- JOHNSON CH, IVANISEVIC J, SIUZDAK G. Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms. In: *Nat Rev Mol Cell Biol.* 17, 7, 2016, pp. 451–459.
- JOHNSON, C.H.; IVANISEVIC, J.; BENTON, H.P.; SIUZDAK, G. Bioinformatics: the next frontier of metabolomics. In: *Anal Chem.* 87, 1, 2015, pp. 147–56.
- PATTI, G.J.; YANES, O.; SIUZDAK, G. Innovation: metabolomics: the apogee of the omics trilogy. In: *Nat Rev Mol Cell Biol.* 13, 4, 2012, pp. 263–269.
- SCOTTON, C.; FERLINI, A. Biomarkers in rare genetic diseases. In: Wang M, Witzmann FA, editors. *Biochemistry, genetics and molecular biology, role of biomarkers in medicine*. Rijeka: INTECH; 2016. ISBN 978-953-51-2506-8.
- VINAYAVEKHIN, N.; HOMAN, E.A.; SAGHATELIAN, A. Exploring disease through metabolomics. In: *ACS Chem Biol.* 5, 1, 2010, pp. 91–103.
- WISHART, D.S. Emerging applications of metabolomics in drug discovery and precision medicine. In: *Nat Rev Drug Discov.* 15, 7, 2016, pp. 473–84.

Podakovanie

Táto publikácia bola vytvorená v rámci realizácie a ukončenia projektu „Výskum a vývoj nových technológií chemickej analýzy pre metabonomiku/metabolomiku“ (ITMS kód: 26240220007) na základe podpory operačného programu Výskum a Vývoj financovaného z Európskeho fondu regionálneho rozvoja a v rámci projektu APVV-0840-11 financovaného Agentúrou pre vedu a výskum.

Možnosti alternatívnej fortifikácie materského mlieka

MUDr. Peter Krcho, PhD.¹

MUDr. Martina Skokanová²

Ing. Lenka Szerdiová, PhD.³

¹Klinika neonatológie s JVSN, LF UPJŠ a DFN v Košiciach, Slovensko

²Novorozenecké oddelení s JIRP, 2. LF UK a FN Motol, Praha, Česká republika

³Ústav lekárskej informatiky, Lekárska fakulta UPJŠ v Košiciach, Trieda SNP 1, 040 11 Košice, Slovensko

Abstract

Objective. The mother milk has a wider variability in the content of the main nutritive components. Analysis of the mother milk giving us the possibility to compare the main components and manage the individualized on demand fortification. The goal of the study was to compare the concentration of the lipids, proteins, carbohydrates, total solids and energy in clear mother milk with the concentration after the alternative fortification with three different RTF – ready to feed formulas (PreBeba 1 RTF, Nutrilon 0 Nenatal RTF a HIPPne RTF). The aim was to create guide for the individualised fortification of the mother milk.

Methods. Analysis of the mother milk was done in the group of 25 mothers, second and third week after delivery. The second analysis was done after the fortification with three different RTF formulas after the mixture in ratio of 1:1 with the bedside milk analyser MIRIS.

Results. Alternative way of the fortification with PreBeba 1 RTF and Nutrilon 0 Nenatal RTF in the ratio of 1:1 with mother milk enables to increase the concentration of lipids, proteins and carbohydrates. In the same time it is increasing the level of total solids and energy. The mixture of the mother milk with HIPPne RTF is not possible to use as a fortifier.

Conclusion. The own mother milk is the best for the initiation and continual feeding in newborns. High risk and premature newborns are not able to accept enough volume and energy from mother milk, parenteral nutrition is initiated. After the stabilization of the cardiopulmonary functions during the transition period, the mother milk intake is increased but it is still not adequate for the optimal weight gain and it is also not always available. With the alternative fortification we are able to increase the intake of lipids, proteins and energy for the better growth and development.

Key words

breast milk, human milk fortifier; neonate

Úvod

Meniace sa diagnostické a terapeutické možnosti nezrelých a extrémne nezrelých novorodencov prinášajú nové otázky v stratégii podávania stravy s cieľom optimalizovať príjem kľúčových zložiek pre primeraný rast a vývin nervového systému. Rozhodujúca je taktika a načasovanie podávania kolostra, ženského mlieka alebo špeciálnej umelej výživy. Počas prvých 24 hodín dochádza k zmene funkcie enterocytov stimuláciou minimálnym množstvom prijímaného kolostra a súčasne ku kolonizácii gastrointestinálneho traktu mikrobiálnou flórou, ktorú získava novorodenec od matky. [1, 2]. Táto mikrobiálna flóra je kľúčová pre základ mikrobiomu, ktorý sa v posledných štúdiách ukazuje ako veľmi dôležitý orgán pre imunitu ale aj trávenie, vstrebávanie

a metabolizmus s vplyvom na výskyt niektorých civilizačných ochorení v živote jedinca. Mledzivo sa pre jeho obsah imunitných látok a protilátok nazýva aj prvým očkovaním dieťaťa. WHO nazvala preto mledzivo potravou aj liekom [16, 17, 18, 19]. Najnovšie publikované štúdie odporúčajú včasné podávanie trofických dávok už od prvého dňa života po optimálnej prvotnej stabilizácii pľúc a cirkulácie. Dnes je dostupná presná analýza a neinvazívne zhodnotenie orgánovej adaptácie. Pri potvrdení zlepšujúcich sa parametrov pľúcnej mechaniky, možnosti ponechania pacienta na pretlaku v dýchacích cestách so súčasným monitorovaním perfúzie, monitorovaním parametrov adaptácie srdca je možné pristúpiť k podávaniu čerstvo odsatého kolostra od vlastnej matky oveľa skôr ako v minulosti. Trofické podávanie stimuluje aktivitu disacharidáz, hormónov, prekrvenie čreva, motilitu a podporuje mikrobiálnu flóru. Rovnako ako pľúca nezrelého novorodenca nie sú dovyvinuté v čase pôrodu, ani sliznica čreva a enterocyty nie sú zrelosťou pripravené na prijímanie a vstrebávanie živín z MM. Práve kolostrum s vysokým obsahom laktoferínu, imunoglobulínov a optimálneho zloženia bielkovín, tukov s primeranou osmolaritou od vlastnej matky je najideálnejšou cestou prevencie nie len nekrotizujúcej enterokolitídy ale aj prevencie neskorkej infekcie. Bielkoviny majú zastúpenie 2,3 g/100 ml v kolostre v porovnaní s ich obsahom v zrelom mlieku 0,8-1,1 g/100 ml. Hlavnými bielkovinami kolostra sú laktalbumín a kazeín (srvátka). V mledzive je pomer laktalbumínu a kazeínu 90:10, čo je výhodné pre trávenie, vytvára mäkké hrudky v žalúdku, skracuje čas vyprázdňovania žalúdka a podporuje trávenie [3, 4, 5, 6, 7]. Týmto mledzivo získava na peristaltiku čriev podporujúci účinok, ktorý pomáha dieťaťu pri vyprázdnení smolky [8]. Asi štvrtinu bielkovín v kolostre tvoria obranné látky, hlavne sekrečný IgA, lyzozým a laktoferín. Vo viacerých štúdiách bola potvrdená vysoká účasť IgA v kolostre, ako dôležitého faktora pre vývoj imunitného systému črevnej sliznice. Sekrečný IgA prikrýva sliznicu tráviaceho traktu, chráni

tak črevnú sliznicu pred osídlením choroboplodnými baktériami [9] Táto ochrana predstavuje spôsob prevencie novorodencov proti nekrotizujúcej enterokolitíde NEC [10, 11, 12, 13, 14, 15]. Tuky predstavujú najvariabilnejšiu zložku MM. Množstvo tuku sa s postupnou maturáciou mlieka zvyšuje z 2 g/100 ml v kolostre na 3,8-4,5 g/100 ml v zrelom materskom mlieku. Základným cukrom v materskom mlieku je laktóza, okrem nej ešte galaktóza, fruktóza a malé množstvo iných oligosacharidov. Laktóza stúpa zo 4 g/100 ml v kolostre na 6-7g/100ml v zrelom mlieku [3, 5]. Oligosacharidy parciálne zabezpečujú ochranu novorodencov pred infekciami patogénnymi mikroorganizmami ale súčasne udržiavajú stabilný mikrobiom [20]. Práve oligosacharidy predstavujú veľkú zložku celkovej sušiny, kolostrum obsahuje 22-24 g/l oligosacharidov [21]. Množstvo v materskom mlieku je až 20 krát väčšie ako v kravskom mlieku a ešte väčšie ako v kravskom kolostru [22]. Energetická hodnota kolostra je 67 kcal/100 ml, zatiaľ čo energetická hodnota zrelého MM je 75 kcal/100 ml.

Napriek tomu nie je u nezrelých novorodencov postačujúce vlastné MM na dosiahnutie požadovaných váhových prírastkov. Na mnohých jednotkách intenzívnej starostlivosti nie je dostupné cudzie odstriedané pasterizované materské mlieko, chýbajú banky materského mlieka, oddelenia nemajú dostatočné priestorové podmienky a logistiku na zber a fungovanie banky, ošetrojúci personál nemá inú možnosť ako siahnúť na umelé formuly. Fortifikácia čerstvo odsatého vlastného MM pomocou tekutých formúl je alternatívnou taktikou podpory vývinu všetkých orgánových systémov a to predovšetkým mozgu.

Výskyt nekrotizujúcej enterokolitídy je vyšší v skupine novorodencov, kde nie je dostupné vlastné čerstvo odsaté kolostrum a následne MM a ošetrojúci personál pokiaľ nie je dostupné pasterizované MM z banky pristupuje k podávaniu práškovej alebo tekutej formuly. Práve skúsenosť klinikov s lepšou toleranciou tekutých formúl oproti práškovým formulám viedla autorov práce otestovať obohacovanie MM pridávaním tekutej formuly v pomere 1:1. Tekuté formuly obsahujú štúdiami overené zloženie, zabezpečujúce pre novorodenca optimálny príjem bielkovín, tukov a cukrov a energie a v klinickej praxi dosahujú tieto novorodenci optimálnejšie váhové prírastky. Ďalšou veľkou výhodou takto fortifikovaného MM je jeho menšia potreba ale stále zachovaný príjem laktoferínu tak dôležitého pri prevencii nekrotizujúcej enterokolitídy [10].

V našej štúdii sme analyzovali zloženie čerstvo odsatého MM pred a po fortifikácii alternatívnymi na trhu dostupnými formulami – fortifikátmi. Porovnávali sme základné parametre ako proteíny, cukry, tuky, celkovú sušinu a energetickú hodnotu.

Materiál a metódy

V tejto štúdii sme porovnávali koncentráciu tukov, cukrov, bielkovín, celkovej sušiny a energie v materskom mlieku pred a po fortifikácii tekutými formulami. Zvyšovať jednotlivé výživové hodnoty v MM môžeme štandardnými práškovými fortifikátmi, ale aj tak, že budeme MM zmiešavať s formulou určenou pre nezrelých rizikových novorodencov v pomere 1:1. Vzorky MM boli odoberané skupine 25 matiek druhý alebo tretí týždeň po pôrode a následne analyzované pomocou bedside analyzátora MIRIS. Vek matiek bol v rozmedzí od 24 do 35 rokov. Zber a analýza vzoriek materského mlieka boli akceptované etickou komisiou zdravotníckeho zariadenia. U každej matky sa fortifikácia realizovala tromi tekutými formulami od rôznych výrobcov. Celkovo sa s jednou odobratou vzorkou vykonali 4 merania. Čerstvo odsaté MM bolo fortifikované tekutou formulou v pomere 1:1. Jednalo sa o formuly od troch rôznych výrobcov : PreBEBA 1 RTF, Nutrilon 0 Nenatal RTF a HIPPne RTF. Tekuté formuly mali vždy presné zloženie dané výrobcom, náhodným spôsobom boli overené.

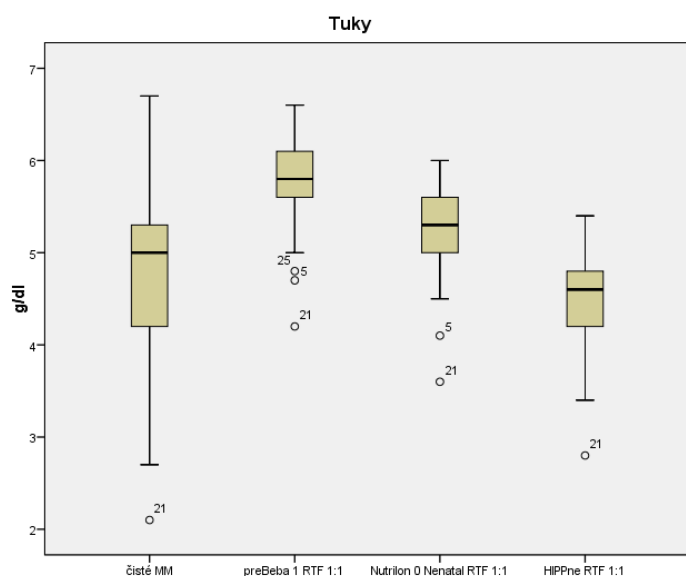
Štatistická analýza sa vykonala z 25 odberov. Na analýzu koncentrácie jednotlivých zložiek v MM (konkrétne: tuky, bielkoviny, cukry, celková sušina a energia) pred a po jeho fortifikácii bol použitý MIRIS bedside analyzátor mlieka. Vzorky MM boli odsaté do skúmaviek vždy v dopoludňajších hodinách od 9.00 do 10.00 hod po pravidelnom rannom dojení profesionálnou sestrou. Pred analýzou sa prístroj MIRIS pripravuje podľa pokynov výrobcu. Preplachuje sa čistiacim roztokom objemom 10ml, následne kalibračným roztokom o objeme 10ml. Po kalibrácii prístroja prístroj analyzuje mlieko a po analýze sa opäť prístroj prepláchne čistiacim roztokom a destilovanou vodou. MIRIS analyzátor poskytuje vykonať rýchle, jednoduché a spoľahlivé merania obsahu tuku, energie, bielkovín, celkovej sušiny a cukrov MM z malej vzorky 1-3 ml. Tento analyzátor integruje testované a certifikované metodiky (infračervená spektroskopia), ktorý meria absorpciu infračerveného žiarenia na konkrétnu frekvenciu komponentov, ktoré sú hodnotené [23]. Vzorky boli skladované pri izbovej teplote a tesne pred analýzou sa zahriali na teplotu 40 °C. Prístroj je schválený európskou normou 98/79/EC [34]. Analýza prebieha bez pridania chemických prídavkov. Výsledky sa zobrazujú za 60 sekúnd. Výhodou zariadenia je malá veľkosť, jednoduchá manipulácia, úspora času, vysoká presnosť merania.

Štatistická analýza

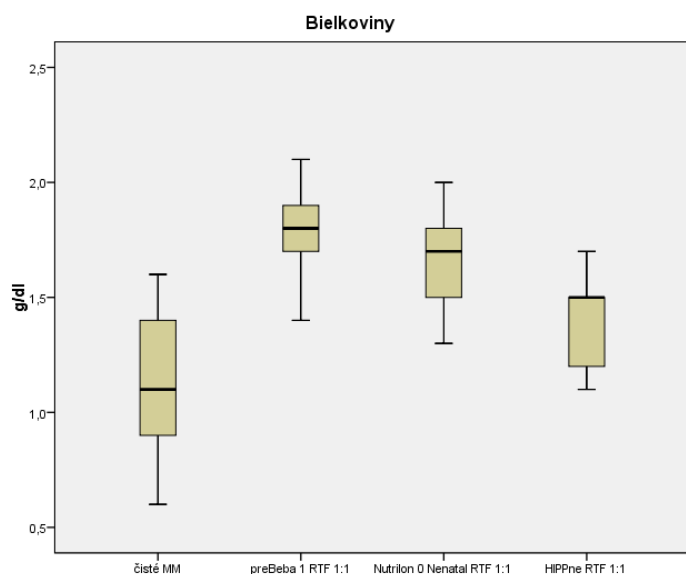
Údaje boli analyzované v prostredí programu IBM SPSS Statistics 23 a MS Excel 2016. Čisté MM (MM), odobraté 25 rodičkám v druhom alebo treťom týždni od pôrodu,

bolo fortifikované tromi rôznymi produktmi preBeba 1 RTF, Nutrilon 0 Nenatal RTF a HIPPne RTF. Dáta boli spracované štandardnými metódami deskriptívnej štatistiky (aritmetický priemer (AP), smerodajná odchýlka (SD), horný a dolný 95 % interval spoľahlivosti aritmetického priemeru (CI h-d), medián (M) a variačné rozpätie (R)). Na analýzu významnosti rozdielu stredných hodnôt dvoch náhodných výberov pred a po fortifikácii MM bol použitý Studentov t-test ($H_0: \mu_0 = \mu_1$ ($t \geq t_{krit}$); $H_1: \mu_0 < \mu_1$ ($t < t_{krit}$)). V prípade zamietnutia hypotézy o normalite údajov bol použitý neparametrický Párový Wilcoxonov test ($H_0: m_0 = m_1$; $H_1: m_0 \neq m_1$). Rozdiel stredných hodnôt bol testovaný na hladine významnosti $\alpha = 0.05$.

Graf 1 Koncentrácia tukov [g/dl] v čerstvom MM a v MM po fortifikácii produktmi preBeba 1 RTF, Nutrilon 0 Nenatal RTF a HIPPne RTF



Graf 2 Koncentrácia bielkovín [g/dl] v čerstvom MM a v MM po fortifikácii produktmi preBeba 1 RTF, Nutrilon 0 Nenatal RTF a HIPPne RTF



Výsledky

Tuky

Priemerná hodnota obsahu tukov v MM pred fortifikáciou (Graf 1), dosiahla úroveň $4,82 \pm 1,1$ [g/dl] ($AP \pm SD$). Po fortifikácii Nutrilon 0 Nenatal RTF 1:1 bol zaznamenaný nárast priemernej hodnoty o 0,39 [g/dl] ($5,21 \pm 0,57$ [g/dl]), čo v porovnaní s priemernou hodnotou tukov po fortifikácii preBeba 1 RTF 1:1 predstavuje iba 8,1 % zvýšenie. Po fortifikácii preBeba 1 RTF 1:1 bol zaznamenaný nárast až 19,1 % ($5,74 \pm 0,58$ [g/dl]). V prípade produktu HIPPne RTF 1:1 sa priemerná hodnota koncentrácie tukov dokonca znížila o 7,3 % ($4,47 \pm 0,60$ [g/dl]). Porovnaním strednej hodnoty tukov v MM pred a po fortifikácii produktmi preBeba 1 RTF 1:1 ($p = .000$; $t = -7,938$) a Nutrilon 0 Nenatal RTF 1:1 ($p = .014$; $Z = -2,455$) aj HIPPne RTF 1:1 ($p = .024$; $Z = -2,255$) bol zistený signifikantný rozdiel na hladine významnosti $\alpha = 0,05$. Na základe toho je možné predpokladať, že stredná hodnota koncentrácie tukov v MM po fortifikácii preBebou 1 RTF 1:1 a Nutrilon 0 Nenatal RTF 1:1 sa významne zvýši. V prípade produktu HIPPne RTF 1:1 ide o pokles strednej hodnoty obsahu tukov v MM.

Bielkoviny

Po fortifikácii MM produktmi preBeba 1 RTF 1:1, Nutrilon 0 Nenatal RTF 1:1 ako aj HIPPne RTF 1:1 bol nameraný nárast strednej hodnoty obsahu bielkovín (Graf 2). Najväčší nárast strednej hodnoty koncentrácie bielkovín bol kvantifikovaný práve po fortifikácii MM produktom preBeba 1 RTF 1:1 a to až o 54,8 % ($1,15 \pm 0,31$ [g/dl] vs. $1,78 \pm 0,18$ [g/dl]). V porovnaní s produktom Nutrilon 0 Nenatal RTF 1:1 bol tento nárast vyšší o 11,3 % ($1,65 \pm 0,19$ [g/dl]) a až o 36,8 % vyšší ako po fortifikácii MM HIPPne RTF 1:1 ($1,42 \pm 0,18$ [g/dl]). Porovnaním stredných hodnôt hladiny bielkovín v MM pred a po fortifikácii MM, každého sledovaného produktu, bola zistená signifikantná rozdiel na hladine významnosti $\alpha = 0,05$.

Cukry

V MM bola pred fortifikáciou nameraná priemerná hodnota hladiny cukrov $6,16 \pm 0,39$ [g/dl] (Graf 3). Po fortifikácii HIPPne RTF 1:1 bola priemerná hodnota hladiny cukrov nameraná na úrovni $5,59 \pm 0,32$ [g/dl], čo predstavuje zníženie takmer o 9,3 %. Po fortifikácii preBeba 1 RTF 1:1 ($7,04 \pm 0,30$ [g/dl]) a Nutrilon 0 nenatal RTF 1:1 ($7,27 \pm 0,37$ [g/dl]) bol nárast obsahu cukrov kvantifikovaný v priemere o 16 %. Stredná hodnota obsahu cukrov v čistom MM sa štatisticky významne odlišuje od strednej hodnoty obsahu cukrov v MM po fortifikácii preBeba 1 RTF 1:1 ($p = .000$; $t = -13,375$) a Nutrilon 0 Nenatal RTF 1:1 ($p = .000$; $t = -22,307$). V prípade produktu HIPPne RTF 1:1 ($p = .999$; $t = 11,715$) nulovú hypotézu nezamietame.

Celková sušina

Stredná hodnota celkovej sušiny v čistom MM bola nameraná na hladine $13,02 \pm 1,51$ g/dl (Graf 4). Po následnej fortifikácii produktom preBeba 1 RTF 1:1 ($15,82 \pm 0,89$ [g/dl]; $p=.000$; $Z=4,374$) a Nutrilon 0 Nenatal RTF 1:1 ($15,38 \pm 0,88$ [g/dl]; $p=.000$; $t=-13,336$) bol zaznamenaný nárast obsahu v priemere o 20 %. Rozdiel strednej hodnoty celkovej sušiny pred a po fortifikácii MM je signifikantný na hladine významnosti $\alpha=.05$. V prípade produktu HIPNe RTF 1:1 sa jedná o 4,7 % ($12,41 \pm 0,83$ [g/dl]) zníženie priemernej hodnoty celkovej sušiny. a nulovú hypotézu nemôžeme zamietnuť ($p=.999$; $t=3,368$).

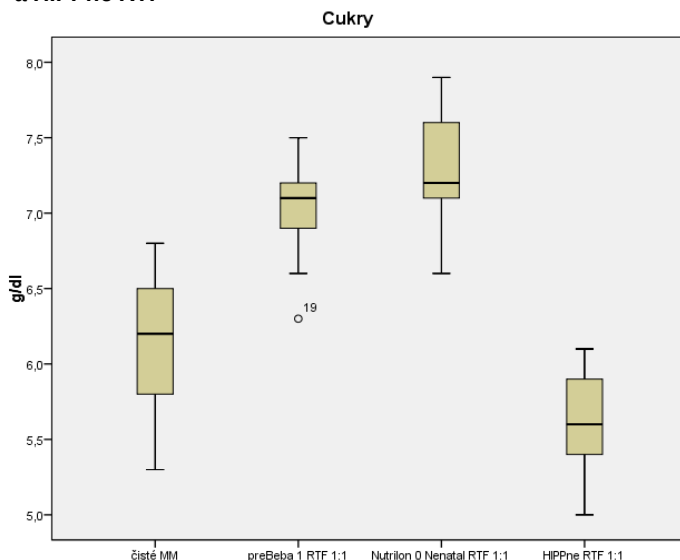
Energia

MM vykazovalo obsah celkovej energie v priemere $72,64 \pm 10,55$ [kcal/l] (Graf 5). Jej nárast v priemere o takmer 12 [kcal/l] (t.j.16 %) bol nameraný po fortifikácii MM produktmi preBeba 1 RTF 1:1 ($86,80 \pm 5,80$ [kcal/l]) a Nutrilon 0 Nenatal RTF 1:1 ($83,08 \pm 5,60$ [kcal/l]). V oboch prípadoch (preBeba 1 RTF 1:1; $p=.000$; $Z=-4,376$ aj Nutrilon 0 Nenatal RTF 1:1 $p=.000$; $t=-8,143$) je rozdiel stredných hodnôt sledovaného parametra pred a po fortifikácii MM signifikantný na hladine významnosti $\alpha=.05$. Testovaním rozdielu stredných hodnôt pred a po fortifikácii produktom HIPNe RTF 1:1 nebol zistený nárast strednej hodnoty celkovej energie, práve naopak, jej hodnota sa znížila o viac ako 6 % ($p=.999$; $t=3,446$), preto nulovú hypotézu nezamietame.

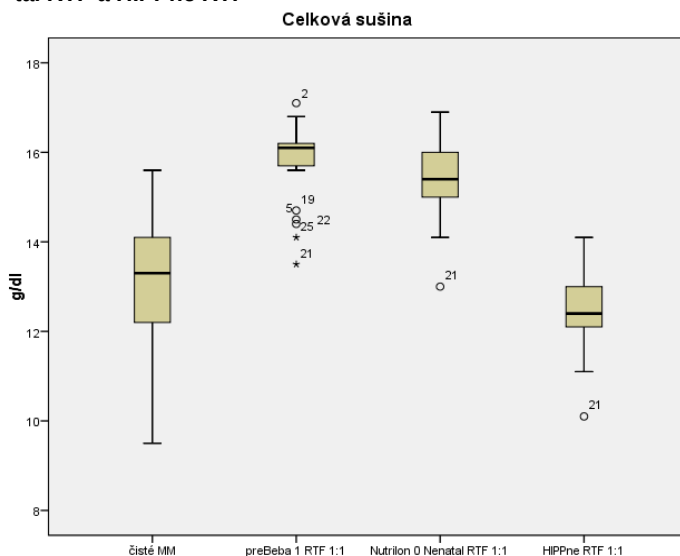
Celkové zhrnutie

MM po fortifikácii preBeba 1 RTF 1:1 vo všetkých parametroch vykazuje zvýšenú hladinu. Priemerná hodnota hladiny tukov bola zvýšená o 19,1%, v prípade bielkovín ide až o 54,8 % nárast, cukry o 14,3 %, celková sušina o 21,5 % a v prípade celkovej energie sa hladina zvýšila o 19,5 %. MM po fortifikácii Nutrilon 0 Nenatal RTF 1:1 taktiež vo všetkých parametroch vykazuje zvýšenú hladinu. Avšak pri porovnaní stredných hodnôt u všetkých sledovaných parametrov, po fortifikácii MM preBeba 1 RTF 1:1 a Nutrilon 0 Nenatal RTF 1:1, hladina tukov a bielkovín vykazuje o 11 % vyššiu strednú hodnotu v prospech preBeba 1 RTF 1:1. Nárast v prospech preBeba 1 RTF 1:1 bol zaznamenaný aj v prípade cukrov 4 %, celkovej sušiny 3,4 % a celkovej energie 5,2 %. U oboch sledovaných produktov, rozdiel stredných hodnôt bol signifikantný na testovanej hladine významnosti $\alpha=.05$. MM po fortifikácii HIPNe RTF 1:1 takmer vo všetkých parametroch vykazuje zníženú hladinu, výnimkou je hladina bielkovín, t.j nárast o 18,7 %. V prípade obsahu tukov ide o 7,3 % pokles, cukrov o 9,25 % pokles, celkovej sušiny o 4,7 % pokles a taktiež aj celkovej energie o 6,17 % pokles (Tab. 1).

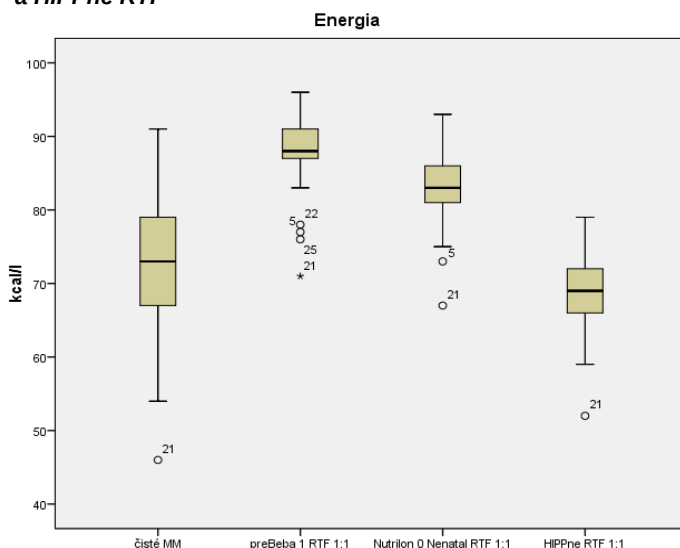
Graf 3 Koncentrácia cukrov [g/dl] v čerstvom MM a v MM po fortifikácii produktmi preBeba 1 RTF, Nutrilon 0 Nenatal RTF a HIPNe RTF



Graf 4 Koncentrácia celkovej sušiny [g/dl] v čerstvom MM a v MM po fortifikácii produktmi preBeba 1 RTF, Nutrilon 0 Nenatal RTF a HIPNe RTF



Graf 5 Koncentrácia energie [kcal/l] v čerstvom MM a v MM po fortifikácii produktmi preBeba 1 RTF, Nutrilon 0 Nenatal RTF a HIPNe RTF



Tab. 1 Charakteristiky opisnej štatistiky sledovaných parametrov v čistom MM a v MM po fortifikácii produktmi preBeba RTF, Nutrilon 0 Nenatal RTF a HIPPne RTF.

Premenná	Opisná štatistika	čisté MM	preBeba 1 RTF 1:1	Nutrilon 0 Nenatal RTF 1:1	HIPPne RTF 1:1
TUKY (g/dl)	AP±SD	4,82±1,1	5,74±0,58	5,21±0,57	4,47±0,60
	CI 95% (d-h)	4,37-5,28	5,51-5,98	4,98-5,45	4,23-5,72
	M	5,0	5,8	5,3	4,6
	R	4,6	2,4	2,4	2,6
BIELKOVINY (g/dl)	AP±SD	1,15±0,31	1,78±0,18	1,65±0,19	1,42±0,18
	CI 95% (d-h)	1,02-1,27	1,71-1,86	1,58-1,73	1,35-1,49
	M	1,1	1,8	1,7	1,5
	R	1	,7	,7	,6
CUKRY (g/dl)	AP±SD	6,16±0,39	7,04±0,30	7,27±0,37	5,59±0,32
	CI 95% (d-h)	6,00-6,33	6,91-7,16	7,12-7,42	5,46-5,72
	M	6,2	7,1	7,2	5,6
	R	1,5	1,2	1,3	1,1
CELKOVÁ SUŠINA (g/dl)	AP±SD	13,02±1,51	15,82±0,89	15,38±0,88	12,41±0,83
	CI 95% (d-h)	12,40-13,65	15,45-16,19	15,02-15,74	12,06-12,75
	M	13,3	16,1	15,4	12,4
	R	6,1	3,6	3,9	4,0
ENERGIA (kcal/l)	AP±SD	72,64±10,55	86,80±5,80	83,08±5,60	68,16±5,62
	CI 95% (d-h)	68,28-77	84,41-89,19	80,79-85,37	65,84-68,42
	M	73	88	83	69
	R	45	25	26	27

AP – aritmetický priemer, CI 95 % d-h – horný a dolný 95 % interval spoľahlivosti aritmetického priemeru, M – medián, SD – smerodajná odchýlka, MM – materské mlieko, R – variačné rozpätie, RTF – určené na priamu spotrebu

Tuky

Vo všetkých troch prípadoch ide o štatistický významný rozdiel testovaný na hladine významnosti $\alpha=0.05$. V prípade produktu preBEBA 1 RTF a Nutrilon 0 Nenatal RTF, stredné hodnoty nadobúdajú rastúci charakter na rozdiel od fortifikátu HIPPne RTF, po ktorom bol kvantifikovaný pokles strednej hodnoty.

Bielkoviny

Každá vzorka MM po obohatení tekutým fortifikátorom vykazovala zvýšenú koncentráciu bielkovín. Tento rozdiel bol významný na hladine významnosti $\alpha=0.05$. Najvýraznejšie pri zmiešavaní formulou preBeba 1 RTF.

Cukry

Po obohatení MM tekutými formulami preBeba RTF a Nutrilon 0 Nenatal sa koncentrácia cukrov významne zvýšila a významné zníženie hodnoty cukrov po pridaní HIPPne RTF.

Celková sušina

Po primiešaní troch rôznych tekutých formúl sa ukázalo významné zvýšenie hladín celkovej sušiny s preBEBA 1 RTF, ako aj s Nutrilon 0 Nenatal RTF. Testovaním rozdielu priemernej hodnoty koncentrácie celkovej sušiny v čistom MM a po jeho zmiešaní produktom HIPPne RTF nebola zistená významne vyššia koncentrácia celkovej sušiny, práve naopak, namerané hodnoty majú klesajúci charakter.

Energia

Po primiešaní troch rôznych tekutých formúl sa ukázalo významné zvýšenie hladín energie po pridaní preBeba 1 RTF, ako aj po pridaní Nutrilon 0 Nenatal RTF a nevýznamné zmeny hodnoty energie po pridaní HIPPne RTF.

Diskusia

Na jednotkách intenzívnej starostlivosti pre novorodencov v dnešnej dobe nie je dostatok bánk materského mlieka, pasterizované cudzie odstriekané mlieko je dostupné len pokiaľ sú na oddelení súčasne hospitalizované matky, ktoré majú dostatok mlieka pre svoje a môžu poskytnúť vlastné odstriekané mlieko mamičkám, ktoré ho majú nedostatok. [24].

Pokiaľ žena nedojčí, je dôležité, aby vybrala za MM čo najlepšiu náhradu. Tieto náhrady, ktoré sa označujú ako formule, sú prevažne vyrábané z kravského mlieka. Kravské mlieko je potrebné upraviť tak, aby sa svojim zložením čo najviac podobalo MM – znížiť celkový obsah bielkovín, zmeniť pomer kazeínu a albumínu, prípadne aby náhrada neobsahovala kazeín vôbec, zvýšenie obsahu sacharidov a pod. V prípade nezrelých a rizikových novorodencov je však potrebné naopak niektoré nutričné hodnoty MM zvyšovať, aby sme dosiahli optimálny rast a vývin tak dôležitý predovšetkým pre vývin centrálného nervového systému. Treba zdôrazniť, že ide o potravinu vhodnú pre výživu dojčiat od narodenia len ak nemôžu byť dojčené [25]. Práve tieto formuly sa snažia byť najviac prispôsobené zloženiu MM. Adaptovaná bielkovina je stráviteľnejšia, a preto vhodnejšia hlavne pre nedonosené deti [16, 26, 27]. Tieto dojčenské formuly v práškovej alebo tekutej forme obsahujú rovnako ako MM výlučne alebo prevažne mliečny cukor laktózu [26, 28]. Počiatočné mlieka sú taktiež obohatené masnými kyselinami tak, aby pomer nenasýtených a nasýtených MK bol aspoň 1:1 [27]. Ďalej sú obohatené železom, vitamínmi, zinkom a selenom. Naopak obsah ďalších minerálov a celkových bielkovín je v tomto mlieku znížený oproti mlieku kravskému [27]. V prípade nezrelých a vysoko rizikových novorodencov je najväčším rizikom po pridaní formuly intolerancia alebo rozvoj nekrotizujúcej enterokolitídy so závažnými život ohrozujúcimi komplikáciami.

V práci autori poukázali na novú možnosť fortifikácie MM po dosiahnutí enterálneho príjmu 80-100 ml/kg dennej dávky, u tých najrizikovejších zvyčajne extrémne nezrelých novorodencov, kde nemôžeme dosiahnuť požadované nutričné hodnoty jednotlivých parametrov. Práve táto forma fortifikácie umožňuje zvýšiť nie len hodnotu bielkovín ale aj hodnotu tukov a aj samotnej energie bez výraznejšieho zvyšovania hladiny cukrov, ktoré nemusia byť vždy žiaduce. Naopak v situácii, kde extrémne nezrelý novorodenec trpí nedostatočnou schopnosťou regulácie metabolizmu cukrov, môže voľba tej formuly, ktorá má o niečo vyššiu hodnotu cukrov prospešnejšia, ale nie paušálne. Z hľadiska vývinu nervového systému je zas extrémne dôležité aby sa dbalo na optimálny prísun bielkovín ale aj tukov, v týchto situ-

áciách sú zas tie najmodernejšie tekuté formuly výhodnejšie.

Prezentovaná forma obohacovania, fortifikácia MM dáva klinikom návod na možnú alternatívnu fortifikáciu pomalým zvyšovaním potrebných výživových zložiek podľa individuálnej reakcie dieťaťa v čase stabilnej cirkulácie a dýchania, pokiaľ nie je dostupné vlastné alebo cudzie pasterizované materské mlieko. Kľúčovou stratégiou je tesný kontakt novorodenca s matkou, dostupnosť vlastného MM, podávaním ktorého sa znižuje riziko rozvoja nekrotizujúcej enterokolitídy (laktoferín). Na druhej strane u tých pôrodnou hmotnosťou najmenších novorodencov je kľúčové pomalé postupné zvyšovanie jednotlivých výživových zložiek podľa individuálnych potrieb tak aby sa dosiahol minimálny váhový prírastok 100 až 150 g počas 7 až 10 dní [10]. Po období kombinovanej enterálnej a parenterálnej výživy, sa často začína fortifikovať materské mlieko najprv len čistou bielkovinou vo forme prášku, pokiaľ je dostatok materského mlieka pokračuje sa fortifikácia pomocou presne na tento účel určeným práškovým fortifikátom avšak nie vždy je dostupné materské mlieko v dostatočnom objeme [34]. V prípade viacpočetnej gravidity matka nestihá vyprodukovať dostatok materského mlieka. Výhodou je aj možnosť postupného prechodu z materského mlieka na umelé zmiešavaním materského mlieka v pomere 1:1. Pomerne často sú pozorované známky intolerancie vo forme distenzie bruška, ublinkávania pri náhlej zmene podávanej stravy z MM na umelú formulu. Kombinácia materského mlieka a formuly RTF je jednoduchšou formou zabezpečovania dostatočných energetických dávok s primareným zložením jednotlivých kľúčových zložiek.

Literatúra

1. KAPELLEROVÁ, A. et al. *Propedeutika detského lekárstva*. Bratislava : UK, 2002. Výživa s. 53-7636
2. ŠAŠINKA, M., ŠAGÁT, T. et al. *Pediatrica*. Košice : Satus, 1998.
3. LÍŠKA, K., PAULOVÁ, M., PEYCHL, I. *Výživa novorodencov*. Modul postgraduálneho vzdelávacieho programu Subkatedry neonatológie IVZ Bratislava, 1997, s. 69
4. DLUHOLUCKÝ, S. Dojčenie a náhradná výživa. In ZIBOLEN, M., ZBOJAN, J., DLUHOLUCKÝ, S. *Praktická neonatológia*. Martin: Neografia 2001. s. 321-7.
5. LAWRENCE, R. A. *Breastfeeding: Guide for the Medical Professional*. 7th Edition, S.I.: Elsevier Health Sciences, 2010, 1128.
6. JENNESS, R. The composition of human milk. *Seminars in perinatology*. 1979; 3: 225–239.
7. HAMBRAEUS, L. Composition of human milk: nutritional aspects. *Bibliotheca nutritio et dieta*. 1996; 53: 37-44.
8. FENDRYCHOVÁ, J., BOREK, I. Intenzívni péče o novorozence NCO NZO, 1. vyd., 2007 s. 404.

9. CHAN, G. M. Effects of Powdered Human Milk Fortifiers on the Antibacterial Actions of Human Milk. *Journal of Perinatology* 2002; 23: 620-623.
10. ADAMKIN, D. H. *Nutritional Strategies for the Very Low Birthweight Infant*. Cambridge Medicine (2009). 203.
11. FIELD, C. J. The Immunological Components of Human Milk and Their Effect on Immune Development in Infants. *The Journal of Nutrition* 2005; 135: 1-4.
12. GOLDMAN, A. S. Modulation of the Gastrointestinal Tract of Infants by Human Milk. Interfaces and Interactions. An Evolutionary Perspective. *The Journal of Nutrition* 2000; 130: 426-431.
13. LUCAS, A., COLE, T. J. Breast milk and neonatal necrotizing enterocolitis. *Lancet* 1990; 336: 1519-23.
14. SULLIVAN, S., SCHANLER, R. J., KIM, J. H. et al. An exclusively Human Milk-Based Diet Is Associated with a Lower Rate of Necrotizing Enterocolitis than a Diet of Human Milk and Bovine Milk-Based Products. *The Journal of Pediatrics* 2010; 156: 562-7.
15. KVERKA, M., BURIANOVA, J., LODINOVA-ZADNIKOVA, R., KOCOURKOVA, I. et al. Cytokine Profiling in Human Colostrum and Milk by Protein Array Clinical Chemistry; *ProQuest Central* 2007; 53, 5: 955-962.
16. KRCHO, P., VOJTOVA, V., BENESOVA, M. Analysis of Human Milk Composition After Preterm Delivery With and Without Fortification; *Maternal and Child Health Journal*. Vol. 19, no. 8 (2015), s. 1657-1661.
17. HRSTKOVÁ, H. a kol. *Výživa kojencu a mladších batolat*. 1. Vyd. Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2003, s. 77.
18. WEIGERT, V. *Všechno o kojení*. 1. Vyd. Praha: Portál, 2006, s. 160.
19. GREGORA, M., PAULOVA, M. *Výživa kojencu, maminčina kuchařka*. Praha: Grada Publishing, 2003, s. 104.
20. HANREICH, I. *Výživa kojencu aneb jídlo a pití v prvním roce života*. 1. Vyd. Praha: Grada Publishing, 2000, s. 76.
21. ASAKUMA, S. et al. Variation of major neutral oligosaccharides levels in human colostrum. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2008; 62: 488-494.
22. NEWBURG, D. S., NEUBAUER, S. H. Carbohydrates in milks: analysis, quantities, and significance. In: *Handbook of Milk Composition*, ed. JENSEN RG, Academic Press: San Diego 1995: 273-349.
23. VEH, R. W., MICHALSKI, J. C., CORFIELD, A. P., SANDER-WEWER, M., GIES, D., SCHAUER, R. New chromatographic system for the rapid analysis and preparation of colostrums sialyloligosaccharides. *J Chromatogr* 1981; 212: 313-322.
24. MILLER, E. M., AIELLO, M. O., FUJITA, M., HINDE, K., MILLIGAN, L., QUINN, E. A. Field and laboratory methods in human milk research. *American Journal of Human Biology* 2013; 25: 1-11.
25. POKORNÁ, J. Mateřské mléko potravina pro nejmenší. *Výživa a potraviny*, 2011; 66, 2: 52-54.
26. PAULOVÁ, M. *Kojení*. 1. Vyd. Praha: Jan Vašut, 2000, s. 32.
27. NEVORAL, J., PAULOVÁ, M. *Výživa kojencu*. 1. vyd. Praha: Státní zdravotní ústav, 2007, s. 30.
28. FUCHS, M. *Alergie číhá v jídle a pití*. 2. Vyd. Plzeň: ADÉLA, 2007, s. 268.
29. FOŘT, P. *Moderní výživa pro děti*. 1. Vyd. Praha: MET-RAMEDIA, 2000, s. 232.
30. GAMLIN, L. *Alergie od A do Z*. 1. Vyd. Praha: Readerss Digest Výběr, 2003, s. 256.
31. Directive 98/79/EC of the European Parliament and of the Council of October 1998 on in vitro diagnostic medical devices. Dostupné na: <https://www.emergogroup.com/resources/regulations-europe/98-79-ec>.
32. KUČHTA, M. Úloha bifidobaktérií v mikróbovom osídľovaní novorodenca a jeho vplyv na zdravie jedinca. *Pediatrica* (Bratisl.) 2014; 9 (2): 59-67.
33. KOLAROVSKÁ, H., KOLAROVSKI, B. Hypotrofický novorodenec – 2. časť. *Pediatrica* (Bratisl.) 2008, 3(6): 334-337.
34. RADMACHER, P., ADAMKIN, D. Fortification of human milk for preterm infants. *Semin Fetal Neonatal Med* 2017, 22(1): 30-35.

Pod'akovanie

Mgr. Valike Vargovej za pomoc pri spracovávaní vzoriek. Projekt analýzy fortifikácie materského mlieka podporovala nezisková organizácia NOVORODENEC.SK n.o. (www.novorodenec.sk)

Plynová chromatografia a jej využitie

RNDr. Helena Jurdáková, PhD.¹

RNDr. Renáta Górová, PhD.²

^{1,2}Chemický ústav, Prírodovedecká fakulta
Univerzita Komenského v Bratislave
Ilkovičova č. 6, 842 15 Bratislava
Slovensko

¹helena.jurdakova@uniba.sk

Abstract

Gas chromatography is an analytical separation method, which has since its invention in 1952 developed rapidly and has become one of the most widely used analytical techniques in the field of the environment, industry or medicine. The paper briefly presents the history, principles, instrumentation and some applications of this method.

Key words

gas chromatography, history, principles, instrumentation, applications

Úvod

Plynová chromatografia patrí medzi najpoužívanejšie separačné (keďže zabezpečuje rozdelenie viaczložkových zmesí na jednotlivé zložky) a analytické metódy – v spojení s rôznymi detekčnými systémami slúži aj na identifikáciu a kvantifikáciu jednotlivých zložiek. Počiatky chromatografie siahajú do prelomu 19. a 20. storočia. Napriek prvotnej kritike a odmietaniu, koncom 30-tych rokov 20. storočia sa chromatografia stáva uznávanou metódou. Najskôr sa používala chromatografia s tuhú stacionárnou fázou (adsorbentom) a kvapalnou mobilnou fázou (chromatografia tuhá látka – kvapalina), neskôr, koncom 40-tych rokov bol predstavený koncept využitia plynnej mobilnej fázy (chromatografia tuhá látka – plyn). Začiatkom 50-tych rokov bol skonštruovaný prvý plynový chromatograf a začala sa využívať chromatografia kvapalina – plyn, za čo bola autorom udeľená Nobelova cena. Odvtedy sa táto metóda rýchlo automatizovala a spojením s rôznymi typmi detektorov sa stala neodmysliteľnou súčasťou takmer všetkých laboratórií, ktoré majú za úlohu analyzovať mnohozložkové zmesi či už v oblasti životného prostredia, priemyslu alebo medicíny.



Obr. 1 **Michail Semjonovič Cvet**
(<https://www.chromatographytoday.com/news/gc-mdgc/32/breaking-news/who-is-mikhail-tsvet/32304>)

Princíp a vznik chromatografie

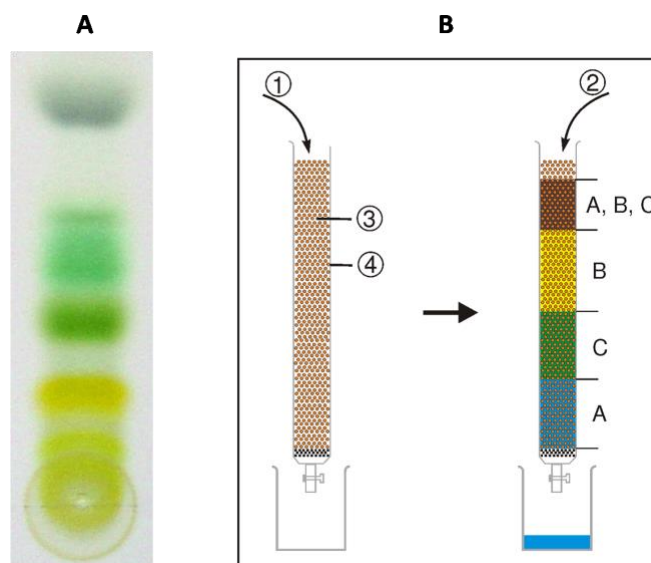
Chromatografia, z gréckeho chroma = farba a grafein = písať, je fyzikálno-chemická separačná metóda. Jej podstatou je rozdeľovanie zložiek zmesi medzi dve fázy, stacionárnu (nepohyblivú) a mobilnú (pohyblivú), ktoré sa od seba odlišujú niektorou základnou fyzikálno-chemickou vlastnosťou (napr. polaritou). Rozdelenie jednotlivých zložiek zmesi je dôsledkom ich rôznej afinity k týmto dvom fázam. Mobilná fáza unáša zložky zmesi cez stacionárnu fázou, pričom jednotlivé zložky interagujú so stacionárnou fázou a tým sa ich pohyb spomaľuje. Zadržanie jednotlivých zložiek zmesi stacionárnou fázou je rozdielne a závisí od vlastností jednotlivých zložiek a intenzity interakcie so stacionárnou fázou.

Zakladateľom chromatografie je ruský botanik Michail Semjonovič Cvet (Obr. 1), ktorý v roku 1900 rozseparoval rastlinné farbivá v petroléterovom extrakte (Strain, 1967). Najskôr na papieri (Obr. 2A), neskôr použil sklenú kolónu naplnenú adsorbentom CaCO₃ (stacionárna fáza) (Obr. 2B).

Obr. 2 A – Separácia rastlinných farbív tenkovrstvovou chromatografiou, B – Schematické znázornenie Cvetovho pokusu v kolónovom usporiadaní

(1 – extrakt rastlinných farbív v petroléteri; 2 – čistý petroléter; 3 – stacionárna fáza (uhličitan vápenatý); 4 – sklená kolóna; A, B, C – zložky separovanej zmesi).

(<http://en.wikipedia.org/wiki/Chromatography>,
<http://sk.wikipedia.org/wiki/Chromatografia>)



Na začiatok kolóny postupne privádzal extrakt farbív (vzorku) a súčasne aj čistý petroleter (mobilná fáza). Po určitom čase sa jednotlivé zložky v kolóne oddelili a ďalším premývaním mobilnou fázou postupne v úzkych zónach opúšťali kolónu. Cvet takto získal oddelené petroleterové roztoky všetkých farbív, ktoré boli predtým v zmesi, čo umožnilo ich kvalitatívne a kvantitatívne stanovenie. Túto metódu prvýkrát publikoval v r. 1903 a tento rok sa považuje za rok objavu chromatografie, pričom metódu oficiálne nazval chromatografiou a výsledok chromatogramom až v r. 1906 (Smolková-Keulemansová a Felzl, 1991; Smolková-Keulemansová, 2003; Tswett, 1906; Zechmeister, 1948;). Pôvodné chromatografické pokusy sa vykonávali s farebnými látkami. Ďalší vývoj potvrdil Cvetov predpoklad, že rovnakú metódu možno aplikovať na bezfarebné látky (Smolková-Keulemansová, 2003; Tswett, 1906), ktoré je možné detegovať napríklad po ožiarení ultrafialovým svetlom (Smolková-Keulemansová a Felzl, 1991). Chromatografické metódy sa dajú klasifikovať z rôznych hľadísk: z hľadiska mobilnej fázy, mechanizmu separácie, fyzického usporiadania systému, spôsobu vyvíjania chromatogramu. Z hľadiska mobilnej fázy rozlišujeme plynovú chromatografiu GC (gas chromatography), kde mobilnou fázou je plyn a kvapalinovú chromatografiu LC (liquid chromatography), kde mobilnou fázou je kvapalina (Soják a kol., 1989).

Princíp plynovej chromatografie

Vznik GC sa datuje rokom 1952, keď A. T. James a A. J. P. Martin publikovali delenie nižších mastných kyselín použitím plynu ako mobilnej fázy a kvapaliny ako stacionárnej fázy (James a Martin, 1952; Bartle, 2002). Použitie plynovej chromatografie v chemickej analýze viedlo k značnému pokroku v mnohých oblastiach ana-

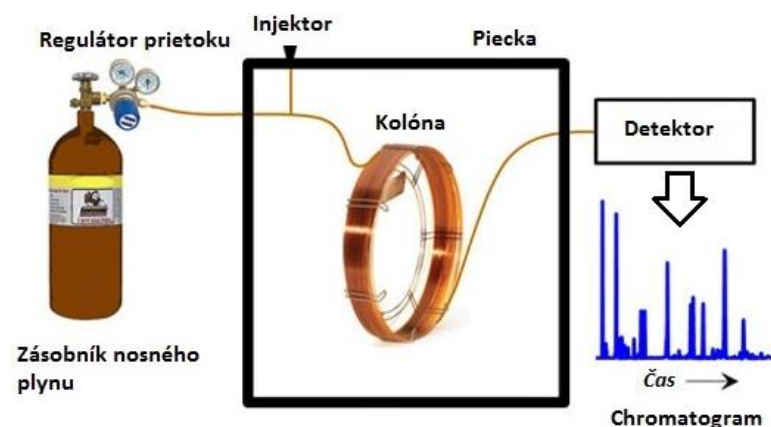
lytickej chémie a k zásadným zmenám v organickej analýze. Mnohé analýzy, ktoré sa predtým nedali uskutočniť, alebo boli značne prácne, sa stali pomocou plynovej chromatografie bežnými. Pomocou GC možno získať úplnejšie informácie o kvalitatívnom a kvantitatívnom zložení mnohozložkových zmesí. Plynovou chromatografiou možno analyzovať všetky plynné, kvapalné i tuhé látky, ktoré sú v chromatografických podmienkach prchavé a stabilné (t. j. nerozkladajú sa na iné látky), ako i látky, ktoré možno chemickými premenami na takúto upraviť. Plynová chromatografia sa používa najmä ako analytická metóda, umožňuje však uskutočniť i separácie v preparatívnom, resp. výrobnom meradle (Soják a kol., 1989).

Medzi hlavné časti plynového chromatografu (Obr. 3 a 4) patrí: *injektor* – slúži na nástrek vzorky; *regulátor prietoku* – zabezpečuje konštantný prietok nosného plynu a vzorky v kolóne; *zásobník nosného plynu* – nosný plyn predstavuje mobilnú fázou (najčastejšie býva nosným plynom hélium, vodík alebo dusík); *termostat* – vyhrieva kolónu a udržiava jej stálu teplotu; *kolóna* – oceľová, sklená alebo kremenná trubica; *detektor* – zaznamenáva elúciu (vyplavovanie) zložiek už rozseparovanej zmesi; *vyhodnocovacie zariadenie* – v súčasnosti osobný počítač s príslušným softvérovým vybavením (Smolková-Keulemansová a Felzl, 1991; Soják a kol., 1989).

Podstatnou časťou plynového chromatografu je kolóna, kde dochádza k separácii plynnej zmesi. Rozoznávame náplňové kolóny (dĺžka 0,5 – 5 m, priemer 2 – 5 mm), ktoré sú naplnené v celom objeme stacionárnou fázou a kapilárne kolóny (dĺžka 10 – 150 m, priemer 0,1 – 0,5 mm), kde stacionárna fáza je nanosená na vnútornom povrchu kolóny (Soják a kol., 1989).

Obr. 3 Schéma plynového chromatografu

(upravené podľa https://www.agilent.com/labs/features/2011_101_bio.html)

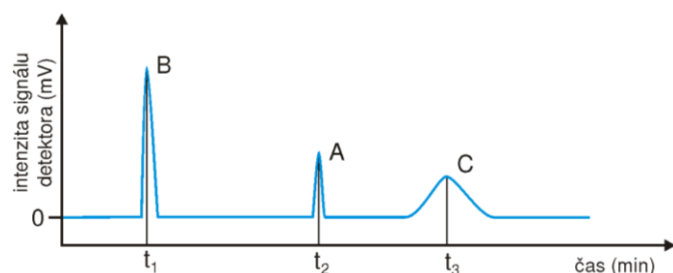


Obr. 4 Plynový chromatograf s automatickým dávkovacím systémom a hmotnostnospektrometrickým detektorom (https://www.wotol.com/1-thermo-scientific-thermo-finnigan-trace-dsq-trac/second-hand-machinery/prod_id/1020928)



Obr. 5 Vzorový chromatogram z delenia trojzložkovej zmesi (zložky A, B, C).

Časová os reprezentuje retenčný čas. Časy t_1 , t_2 a t_3 sú retenčné časy zložiek B, A a C a sú pre každú kolónu a zložku charakteristické. Najväčšiu afinitu k stacionárnej fáze má zložka C, najnižšiu zložka B. (https://sk.wikipedia.org/wiki/Plynová_chromatografia)



Podmienkou pre analýzu zložiek zmesi pomocou plynovej chromatografie je, aby bola zmes plyná, alebo ľahko odpariteľná kvapalina (s teplotou varu do 300 °C). Malé množstvo vzorky (1 – 10 μ l kvapalnej vzorky, 1 – 10 ml plynnej vzorky) sa jednorázovo dávkuje cez injektor do prúdu nosného plynu. V injektore sa vzorka zahreje, odparí a nosným plynom je unášaná do kolóny. V kolóne dochádza k separácii zložiek zmesi podľa toho, akú afinitu vykazujú tieto zložky k stacionárnej fáze. Prvá vychádza z kolóny zložka, ktorá je najslabšie zadržovaná stacionárnou fázou (má k nej najnižšiu afinitu). Ako posledná vychádza zložka, ktorá je najsilnejšie zadržovaná v kolóne (má k stacionárnej fáze najvyššiu afinitu). Výstup už rozdelených zložiek zmesi z kolóny zaznamenáva detektor. Z detektora vychádza elektrický signál, ktorý je spracovaný vyhodnocovacím zariadením (PC). Konečným výstupom je chromatografický záznam (chromatogram), ktorý obsahuje tzv. píky, prislúchajúce jednotlivým zložkám zmesi (Obr. 5). Poloha píku na časovej osi chromatogramu (os x), tzv. retenčný čas je mierou kvality zložky (identifikuje zložku), hovorí o tom ČO JE TO za zlúčeninu. Výška resp. plocha píku je mierou kvantity zložky v separovanej zmesi, hovorí o tom KOLKO je danej zložky v zmesi (Soják a kol., 1989).

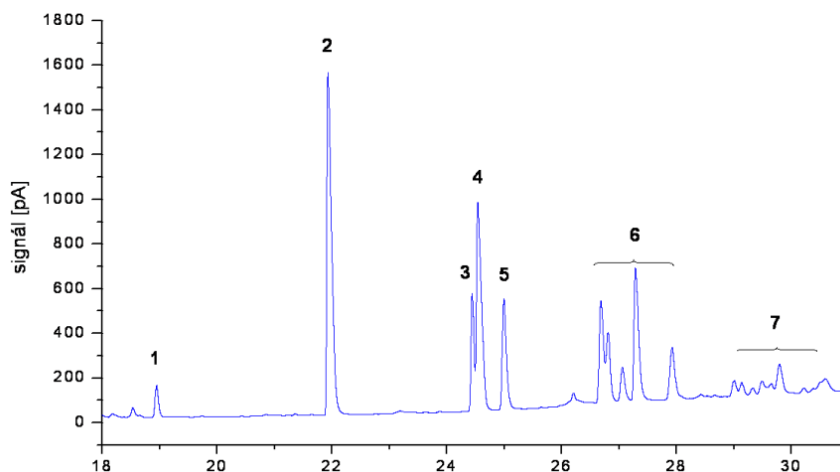
Využitie plynovej chromatografie

Najvýznamnejšou oblasťou je použitie plynovej chromatografie ako analytickej metódy. Predstavuje ideálny prostriedok analýzy organických zlúčenín. Vysoká deliaca účinnosť kapilárnej plynovej chromatografie umožňuje analýzu mnohozložkových zmesí látok i s veľmi blízkymi vlastnosťami. Vysoká citlivosť detekcie dovoľuje použitie plynovej chromatografie pre účely stopovej analýzy (Soják a kol., 1989).

Plynová chromatografia sa využíva vo veľkej miere pri analýze kontaminantov životného prostredia. V jednotlivých zložkách životného prostredia (voda, pôda, ovzdušie, biologický materiál) je možné stanoviť veľmi nízke obsahy škodlivých látok, častokrát s toxickým a karcinogénnym účinkom, ako sú napríklad pesticídy, dioxíny, polychlórované bifenyly, chloroform vznikajúci pri dezinfekcii vody, ropné znečistenie a iné (Obr. 6). Významné je tiež využitie GC vo farmaceutickom priemysle pri výrobe liečiv, v potravinárskom priemysle pri kontrole potravín (Obr. 7), taktiež pri kontrole spotrebných produktov z hľadiska uvoľňovania škodlivín do okolitého ovzdušia, najmä tých, čo obsahujú lepidlá a rôzne náterové hmoty. Rovnako je významné využitie GC v chemickom priemysle pri výrobe vysoko čistých chemikálií, ako aj v medicínskych aplikáciách pri diagnostike ochorení na základe zistenej prítomnosti či neprítomnosti určitých látok v telesných tekutinách (Obr. 8). Plynová chromatografia je tiež nenahraditeľná pri dopingovej a drogovej kontrole, kde sa zisťuje prítomnosť týchto látok alebo ich metabolitov hlavne v moči a krvi, prípadne inom biologickom materiáli (sliny, vlasy...).

Obr. 6 Chromatografický záznam vody kontaminovanej benzínom

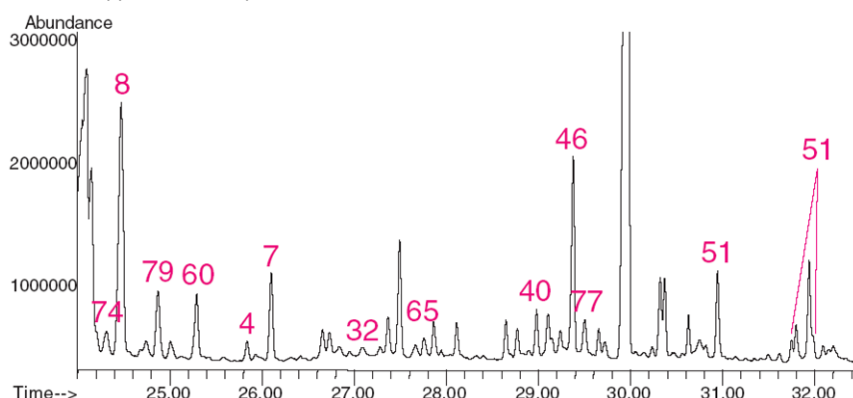
1 – benzén, 2 – toluén, 3 – etylbenzén, 4 – p-xylén, 5 – o-xylén, 6 – aromatické uhľovodíky s počtom uhlíkov 9, 7 – aromatické uhľovodíky s počtom uhlíkov 10.



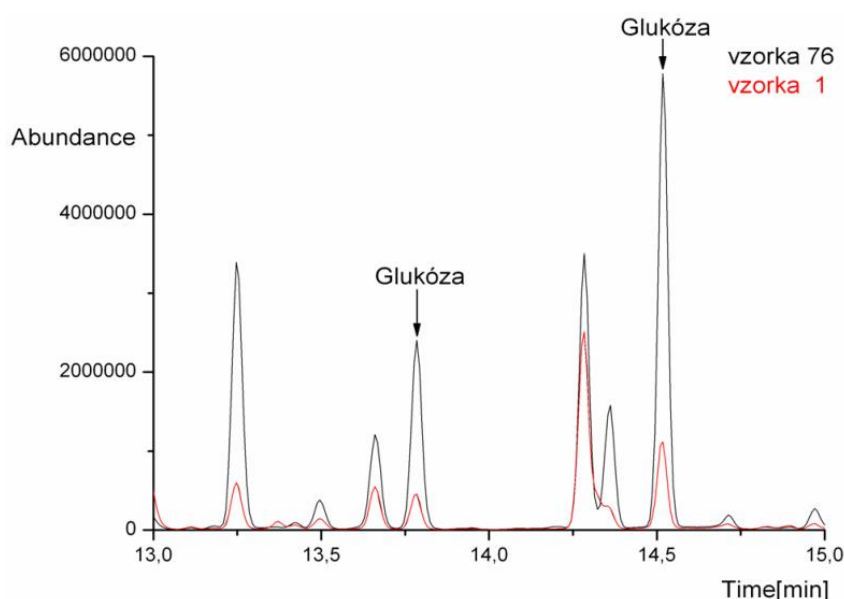
Obr. 7 Chromatografický záznam metanolickeho extraktu špenátu, obsahujúceho rôzne pesticídy

(4 – Chlórbenzilát, 7 – p,p-DDD (dichlórdifenyldichlóretán), 8 – p,p-DDE (dichlórdifenyldichlóretán), 32 – Edifenfos, 40 – EPN (o-etyl-o-(4-nitrofenyl)-fenylfosfonotioát), 46 – Fenprotrín, 51 – izoméry Akrinatínu, 60 – Cyprokonazol, 65 – Tenylchlór, 74 – Pretilachlór, 77 – Tebufénpyrad, 79 – Flusilazol).

(Ochiai N. a kol., Glob. Anal. Solut., AppNote 3/2005)



Obr. 8 Chromatografický záznam moču pacienta s cukrovkou (vzorka 76) a zdravého pacienta (vzorka1)



Záver

Plynová chromatografia ako analytická separačná metóda má široké využitie v rôznych odvetviach a jej využiteľnosť sa ďalej rozširuje skúmaním nových možností úpravy vzoriek do stavu vhodného pre plynovochromatografickú analýzu, ale najmä jej kombináciou s vysoko citlivými a selektívnymi detekčnými systémami.

Literatúra

BARTLE, K. D.; MYERS P. *History of gas chromatography*. In: *Trends in Analytical Chemistry* 21, 2002, pp. 547-557.
JAMES, A. T.; MARTIN, A. J. P. Gas-liquid partition chromatography: the separation and micro-estimation of volatile fatty acids from formic to dodecanoic acid. In: *Biochemical Journal*. 50, 1952, pp. 679-690.
SMOLKOVÁ-KEULEMANSOVÁ, E. 100. výročí objemu chromatografie, Život a dílo M. S. Cvěta. In: *Chemické listy*. 97, 2003, pp. 134-139.
SMOLKOVÁ-KEULEMANSOVÁ, E.; FELTL, L. *Analysis of substances in the gaseous phase*. Amsterdam – Oxford –

New York – Tokio: Wilson and Wilson's Comprehensive Analytical Chemistry, 28, 1991. ISBN 0-444-89122-6.

SOJÁK, L. a kol. *Separace metody v organické chemii*. Bratislava: Univerzita Komenského v Bratislave, 1989.

STRAIN, H. H.; SHERMA, J. Michael Tswett's Contributions to Sixty Years of Chromatography. In: *Journal of Chemical Education*, 44, 1967, pp 235-237.

TSWETT, M. Adsorptionsanalyse und chromatographische Methode. Anwendung auf die Chemie des Chlorophylls. In: *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 24, 1906, pp. 384-393.

ZECHMEISTER, L. History, scope, and methods of chromatography. In: *Annals of the New York Academy of Sciences*. 49, 1948, pp. 145-160.

Podakovanie

Táto publikácia bola vytvorená v rámci realizácie a ukončenia projektu „Výskum a vývoj nových technológií chemickej analýzy pre metabonomiku/metabolomiku“, (ITMS kód: 26240220007) na základe podpory operačného programu Výskum a Vývoj financovaného z Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

ISSN 1338-1024