



SBORNÍK ČLÁNKŮ

PROCEEDINGS

6. ročník odborné konference o ochraně proti CBRN látkám

HAZMAT PROTECT 2026

6th Scientific Conference on CBRN Protection



16.–17. 9. 2026

SÚJCHBO, v.v.i., Kamenná, Česká republika



6. ročník odborné konference o ochraně proti CBRN látkám

pod záštitou generálního ředitele HZS ČR a ředitele SÚJCHBO, v. v. i.

HAZMAT PROTECT 2026

6th Scientific Conference on CBRN Protection

under the auspices of the General Director of the Fire Rescue Service of the Czech
Republic and
the Director of the National Institute for NBC Protection



SBORNÍK ČLÁNKŮ PROCEEDINGS

**Státní ústav jaderné, chemické a biologické ochrany, v. v. i.
Kamenná 71, Milín, Česká republika
16. – 17. září 2026**

National Institute for NBC Protection
Kamenná 71, Milín, Czech Republic
16th – 17th September 2026

Sborník článků z 6. ročníku odborné konference Hazmat Protect 2026

pořádané ve dnech 16. – 17. září 2026 Státním ústavem jaderné, chemické a biologické ochrany, v. v. i. v Kamenné, Česká republika

Proceedings from 6th Scientific Conference Hazmat Protect 2026

held on 16th – 17th September 2026 at National Institute for NBC Protection, Kamenna, Czech Republic.

Odborná komise – Scientific Committee

Ing. Pavel Častulík, CSc., Dekonta CBRN, s. r. o.

prof. Dr. Ing. Aleš Dudáček, VŠB – Technická univerzita Ostrava

plk. gšt. prof. Ing. Stanislav Florus, CSc., Univerzita obrany, Brno

mjr. Ing. Jiří Matějka, MV-GŘ HZS ČR, Praha,

prof. MUDr. Leoš Navrátil, CSc., MBA, dr. h. c., ČVUT, Kladno

Ing. Ladislava Navrátilová, Ph.D., Institut ochrany obyvatelstva, Lázně Bohdaneč

Prof. Ing. Pavel Otřísal, Ph.D., MBA, FTK, Univerzita Palackého v Olomouci

Ing. Jiří Slabotinský, CSc., dříve SÚJCHBO, v. v. i., Brno

Mgr. Jakub Vaněk, Ph.D., SÚJCHBO, v. v. i., Brno

Důležité upozornění pro lékaře a lékaře, kteří jsou členy České lékařské komory:

Mezinárodní konference Hazmat Protect 2026 byla akreditována jako vzdělávací akce kontinuálního vzdělávání dle Stavovského předpisu ČLK č. 16 a má tedy charakter postgraduálního vzdělávání a je garantována ČLS JEP ve spolupráci s ČLK a je ohodnocena 10 kredity.

Z hlediska České lékařské komory je Společnost pro radiobiologii a krizové plánování České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně, z. s. spolupořadatelem konference a odborným garantem za Společnost je prof. MUDr. Jaroslav Racek, DrSc.

Editor: Ing. Kamila Lunerová, Ph.D., SÚJCHBO, v. v. i.

© SÚJCHBO, v. v. i., 2026

ISBN 978-80-909301-5-5



OBSAH

Odběry vzorků a analýzy v terénu

Sample taking and on-site analysis

Václav Helán 2

Vizuální detekce fentanylu a jeho derivátů pomocí ultrafialového záření

Visual detection of fentanyl and its derivatives using ultraviolet radiation

Romana Jelínková, Barbora Konvičková, Petr Žuža 7

Novativní přístupy k prevenci zdravotních incidentů při CBRN události: monitoring, technické a uživatelské aspekty

Innovative approaches to preventing health incidents during CBNR events: monitoring, technical and user aspects

Lýdie Leová, Jaroslava Součková, Hynek Schvach, Jan Hejda, Petr Volf, Marek Sokol, Patrik Kutílek 14

Využití vodivostního IDE senzoru pro detekci nízkých koncentrací plynného peroxidu vodíku

Use of a conductivity sensor to detect low concentrations of gaseous hydrogen peroxide

Vladimír Obšel, Lukáš Králík, Pavel Otřisal 27

Citlivostní mapa vlivu vlastností oděvu na tepelnou zátěž člověka v závislosti na klimatu a intenzitě činnosti

Sensitivity map of clothing property effects on human heat strain under different climatic conditions and workloads

Jan Pokorný, Barbora Řehák Kopečková, Jan Fišer 44

Reaktivační otisky nervově paralytických látek: komplexní vizualizace barevnostní kinetiky biosenzoru Detehit pro identifikaci

Reactivation fingerprints of nerve agents: comprehensive visualization of the colorimetric kinetics of the Detehit biosensor for identification

Dušan Trefilík, Monika Hoskovcová 57

Bienzymatický systém pro stanovení nervově paralytických látek

Bienzymatic system for the determination of nerve agents

Jiří Žeravík, Monika Hoskovcová 62

ODBĚRY VZORKŮ A ANALÝZY V TERÉNU

SAMPLE TAKING AND ON-SITE ANALYSIS

Václav Helán^a

^a THETA ASE, s.r.o., Jasná 307, 735 62 Český Těšín, Česká republika

*Korespondující autor. e-mail: vaclav.helan@2theta.cz, tel.: +420 602 720 747

Abstrakt

Nebezpečné látky se mohou vyskytovat ve vzduchu, ve vodě nebo na terénu v důsledku průmyslových havárií nebo záměrného či náhodného úniku chemických látek/použití chemických zbraní. Dalším případem výskytu potenciálně nebezpečných látek je nález neoznačených balení ve zrušených výrobních závodech nebo u soukromých osob. Každá situace vyžaduje použití speciálních nástrojů pro odběr vzorků, případně přenosných analyzátorů.

Klíčová slova: vzorkování, nebezpečné látky, vzduch, voda, terén, neoznačená balení, přenosné analyzátory

Abstract

Dangerous substances could occur in the air, water, or on the ground as a result of industrial accidents as well as due to misuse or accidental release of chemical substances/of chemical weapons. Also, finding of unmarked packaging in abolished manufacturing plants or at private individuals is another case of presence of potentially dangerous substances in environment.

Every situation requires use of special sampling tools or transportable analysers.

Key words: sampling, dangerous substances, air, water, ground, unmarked packaging, portable analyzers

1. VZORKOVÁNÍ PŘI PRŮMYSLOVÝCH HAVÁRIÍCH NEBO ÚNIKU NEBEZPEČNÝCH LÁTEK

1.1 Vzorkování ovzduší

Vzorkování ovzduší se provádí buď nasáváním do tedlarových vaků, nebo pasivní či aktivní adsorpcí v adsorpčních trubičkách. Pro nasávání do vaků se používají elektrické pumpičky, ale je možno také použít ruční plynové pipety. Jejich výhodou je, že vzorek může být transportován do laboratoře přímo ve vzorkovacím nástroji.



Obrázek 1: Plynová pipeta

1.2 Vzorkování vody

Únik látek lehčích než voda se projeví výskytem skvrn, často duhových, na hladině vodoteče. Úkolem je odebrat co největší podíl té znečišťující látky. Používá se k tomu naběračka s výřezy, která se ponoří tak, aby do ní natékala především povrchová vrstva. V dobře přístupných místech použijeme naběračku drženou v ruce, jinak použijeme naběračku spouštěnou na ocelovém lanku ze břehu nebo z mostu.



Obrázek 2: Naběračky s výřezy

2. VZORKOVÁNÍ PŘI NÁLEZU NEOZNAČENÝCH LÁTEK

2.1 Vzorkování kapalin

Při nález většího množství např. sudů v nepřístupném místě nemůžeme ke vzorkování použít běžný nástroj, jako je pipeta, vzorkovací trubice se spodním uzávěrem nebo průtočná sonda, pokud není možnost na místě nástroj důkladně vyčistit. Použitím stejného nástroje pro odběr z různých nádob by došlo nejen ke kontaminaci vzorku předchozím vzorkem, ale vzhledem k neznámé povaze vzorkovaných látek by mohlo dojít i k bouřlivé reakci.

Nejvhodnějším nástrojem je ruční vakuová pumpička. Ze vzorkovnice vysáváme vzduch a vzorkovnice se plní nasávanou kapalinou. Vzorkovaná kapalina nepřichází do styku se vzorkovacím nástrojem, jen s hadičkou. A není problém přinést na nepřístupné místo svazek hadiček a podle potřeby si je stříhat.

Problém by ovšem mohl nastat, kdyby se jednalo o silně hořlavé látky jako benzín, aceton, čistý líh... Pumpičku při nasávání nejde dost dobře uzemnit a statická elektřina by mohla způsobit výbuch. V tomto případě vyčerpáme vzduch ze vzorkovnice mimo nebezpečný prostor. Potom jenom vodivou uzemněnou hadičkou prorazíme membránku v nástavci vzorkovnice a kapalina se nasaje do vakua.



Obrázek 3: Vakuová nasávací pumpička

2.2 Vzorkování pevných látek

Vhodné je použití dvouplášťového vzorkovače sestávajícího ze dvou trubic vložených do sebe. Když jsou trubice otočené tak, aby otvory v nich nebyly proti sobě, je nástroj uzavřený. V této poloze ho zastrčíme, ve směru vertikálním nebo horizontálním, do vzorkovaného práškového materiálu. Pootočením vnitřní trubice o 180° nástroj otevřeme, materiál se nasype do komor vzorkovače. Zpětným pootočením nástroj uzavřeme a vytáhneme. Získáme tak průřezový vzorek složený z několika dílčích vzorků. To nám poskytne informaci o celkovém složení vzorkovaného celku.

Nástroj v tomto provedení se ale nedá použít pro jemné abrazivní prášky. Jiná konstrukce minimalizuje třecí plochy a nedochází tak k zadření nástroje. (Obrázek 4.)



Obrázek 4 a Dvouplášťový vzorkovač, b Vzorkovač pro abrazivní materiály

3. ANALÝZY NA MÍSTĚ

3.1 Bezkontaktní analýzy

Metanolová aféra přinesla rozšíření přenosných analyzátorů, umožňujících určovat kapaliny přes materiál láhve. Analyzátory na principu infračervené nebo Ramanovy spektrometrie se používají na identifikaci nejrozličnějších látek: hořlavin, narkotik, výbušnin..., a to v kapalných i pevných vzorcích.

3.2 Analyzátory odebírající vzorek

Přenosný coulometrický analyzátor PCA2 (Obrázek 5) slouží ke kvantitativní analýze většiny kationtů i aniontů, rozpuštěného kyslíku nebo SO_2 v nápojích, kyselin a zásad.

Zajímavou možností je speciace – stanovení Cr^{III} a Cr^{VI} , As^{III} a $\text{As}_{\text{celk.}}$, Fe^{II} a Fe^{III} .

Z organických látek je vypracována metodika stanovení kyseliny askorbové, stanovení alkoholu v nápojích, stanovení chelatonu, hydrazinu, formaldehydu.

Obsluha je velmi jednoduchá: stačí ponořit hadičku do zkoumané kapaliny.



Obrázek 5: Přenosný coulometrický analyzátor PCA2

Použitá literatura

- [1] KOTLÍK B.; LANGHANS J.; BERNÁTH P.; KRAJÁK V.: *Vzorkování II – životní prostředí*. Ing. Václav Helán – 2 THETA Český Těšín, 2016. 397 s. ISBN 978-80-86380-81-0.
- [2] HORÁLEK V.; ŠEVČÍK J.G.K.; ČURDOVÁ E.; HELÁN V.: *Vzorkování I – obecné zásady*. Ing. Václav Helán – 2 THETA Český Těšín, 2010. 130 s. ISBN 978-80-86380-53-7.
- [3] HELÁN V.: *Vzorkování V – aktualizace a doplňky*. Ing. Václav Helán – 2 THETA Český Těšín, 2026. 150 s. ISBN 978-80-88279-28-0.

VIZUÁLNÍ DETEKCE FENTANYLU A JEHO DERIVÁTŮ POMOCÍ ULTRAFIALOVÉHO ZÁŘENÍ

VISUAL DETECTION OF FENTANYL AND ITS DERIVATIVES USING ULTRAVIOLET RADIATION

Romana Jelínková^{a*}, Barbora Konvičková^b, Petr Žuja^a^a Ústav ochrany proti zbraním hromadného ničení Vyškov, Univerzita obrany, Kounicova 65, Brno 662 10, Česká republika^b Univerzita obrany, Kounicova 65, Brno 662 10, Česká republika^{*}Korespondující autor. e-mail: romana.jelinkova@unob.cz, tel.: +420 606 079 979

Abstrakt

Práce se zabývá orientační vizuální detekcí fentanylu a vybraných derivátů pomocí ultrafialového záření. Pozornost je zaměřena na injekční roztoky sufentanilu dihydrogencitrátu, fentanylu, alfentanilu hydrochloridu, remifentanilu a na fentanylovou bázi rozpuštěnou v dichlormethanu. Vzorky byly nanášeny na barevné papírové podklady a pozorovány při vlnových délkách 254 nm a 366 nm pomocí UV lampy CAMAG. Výsledky ukázaly, že vizuální odezva sledovaných látek není jednotná a závisí na druhu analytu, jeho koncentraci, použité vlnové délce, vlastnostech podkladu, rozpouštědle a době po nanesení vzorku. Nejvýraznější změny byly zaznamenány při 254 nm, zejména u remifentanilu a fentanylové báze. Metoda může sloužit jako rychlý orientační screening, avšak výsledky nelze považovat za jednoznačné potvrzení přítomnosti konkrétní látky.

Klíčová slova: deriváty fentanylu, fentanyl, fentanylová báze, remifentanil, screening, ultrafialové záření, vizuální detekce

Abstract

This work focuses on the preliminary visual detection of fentanyl and selected fentanyl derivatives using ultraviolet radiation. Injectable solutions of sufentanil dihydrogenate, fentanyl, alfentanil hydrochloride, remifentanil and fentanyl base dissolved in dichloromethane were examined. The samples were applied to coloured paper substrates and observed at wavelengths of 254 nm and 366 nm using a CAMAG UV lamp. The results showed that the visual response of the tested substances was not uniform and depended on the analyte, its concentration, the wavelength used, substrate properties, solvent and time after sample application. The most significant changes were observed at 254 nm, particularly for remifentanil and fentanyl base. The method may be used as a rapid preliminary screening approach; however, the observed visual changes cannot be considered definitive proof of the presence of a specific substance.

Key words: fentanyl, fentanyl base, fentanyl derivatives, remifentanil, screening, ultraviolet radiation, visual detection

1. ÚVOD

Fentanyl a jeho deriváty představují skupinu syntetických opioidů, z nichž kromě fentanylu zejména alfentanil, remifentanil a sufentanil mají významné využití v humánní medicíně, zejména v anestezii a léčbě silné bolesti. Jedná se o látky s vysokou účinností, ale i potenciálem pro vznik fyzické i psychické závislosti. Jednotlivé deriváty se od fentanylu liší rychlostí nástupu účinku, délkou působení, účinností a metabolismem.

Z hlediska orientační detekce je důležité hledat postupy, které umožní rychlé předběžné posouzení podezřelých stop bez nutnosti okamžité laboratorní analýzy. Jednou z možností je využití ultrafialového záření. Princip této metody vychází ze schopnosti některých chemických sloučenin absorbovat UV záření.

Cílem práce je screening možností vizuální detekce fentanylové báze a injekčních roztoků fentanylu a jeho derivátů pomocí UV záření na barevných papírových podkladech. Důraz je kladen na porovnání odezvy při vlnových délkách 254 nm a 366 nm, na vliv papírového nosiče a na rozdíly mezi jednotlivými sledovanými látkami.

2. FENTANYL A JEHO DERIVÁTY

Fentanyl byl poprvé syntetizován Paulem Janssenem v roce 1960. Původním cílem bylo vytvořit vysoce účinné analgetikum, které se bude cíleně vázat na μ -opioidní receptory. Zpočátku bylo jeho klinické využití omezeno především na anestezii, v současnosti se však fentanyl používá ke zvládnutí chronické bolesti v různých léčivých formách, například jako injekční roztoky, nosní spreje, transdermální náplasti, perorální pastilky a rovněž ve formě lízátek pro dětské pacienty.

Chemicky je fentanyl syntetický lipofilní derivát fenylpiperidinu [1]. Sůl fentanylu se označuje jako fentanyl dihydrogencitrát. Jedná se o sůl *N*-fenyl-*N*-[1-(2-fenylethyl)piperidin-4-yl]propanamidu s kyselinou 2-hydroxypropan-1,2,3-trikarboxylovou. Používá se při tlumení porodních bolestí, pooperačních bolestí nebo při léčbě chronické těžko ovlivnitelné nádorové bolesti. Vodný injekční roztok je čirý a jeho pH se pohybuje v rozmezí 4–7,5 [2].

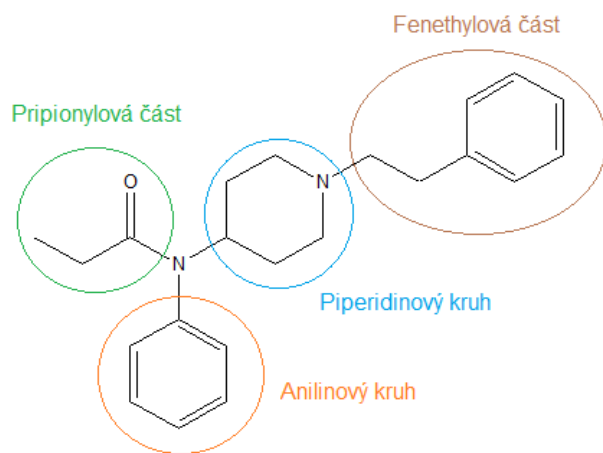
Během vývoje syntetických opioidů byla připravena řada látek s podobnou chemickou strukturou jako fentanyl. Tyto látky se označují jako deriváty nebo analoga fentanylu. Stejně jako fentanyl působí primárně na μ -opioidní receptory, avšak liší se účinností, rychlostí nástupu, délkou působení a metabolismem. Všechny tyto látky mají vysoký potenciál vzniku fyzické i psychické závislosti [3].

Remifentanil je piperidinkarboxylátový ester. Jeho celý název je methyl 1-(3-methoxy-3-oxopropyl)-4-(*N*-propanoylanilino)piperidin-4-karboxylát. Vyznačuje se rychlým nástupem účinku, přibližně 1–2 minuty, a ultrakrátkou dobou působení v rozmezí 5–10 minut. Jeho účinky i nežádoucí účinky jsou závislé na dávce a jsou podobné ostatním opioidům. Remifentanil je rozpustný ve vodě a v alkoholech [4]. Jeho sůl, remifentanil hydrochlorid, chemicky methyl 1-(3-methoxy-3-oxopropyl)-4-(*N*-propanoylanilino)piperidin-4-karboxylát hydrochlorid. Látka je velmi dobře rozpustná ve vodě a používá se ve formě lyofilizovaného bílého prášku pro rekonstituci. Roztok má pH přibližně 3 [5].

Alfentanil patří mezi piperidinové deriváty. Jeho molekula obsahuje na 1. uhlíku navázanou 2-(4-ethyl-5-oxo-4,5-dihydro-1H-tetrazol-1-yl)ethylovou skupinu a na 4. uhlíku *N*-fenylpropanamidovou a methoxymethylovou skupinu. Alfentanil má rychlý nástup účinku, přibližně 1 minutu, a dobu účinku přibližně 10–20 minut. Používá se jako anestetikum během chirurgických zákroků, jako doplněk analgezie při operacích a také jako analgetikum pro kriticky nemocné pacienty [6]. Jeho sůl se označuje jako alfentanil hydrochlorid a její chemický název je *N*-[1-[2-(4-ethyl-5-oxotetrazol-1-yl)ethyl]-4-(methoxymethyl)piperidin-4-yl]-*N*-fenylpropanamid hydrochlorid. Tato sůl je dobře rozpustná ve vodě a v alkoholech a podává se intravenózně [7; 8]

Sufentanil je anilidový derivát vzniklý kondenzací arylaminové skupiny sloučeniny 4-(methoxymethyl)-*N*-fenyl-1-[2-(2-thienyl)ethyl]piperidin-4-amin s kyselinou propanovou. Oproti fentanylů obsahuje navíc thiofenový kruh, což zvyšuje jeho lipofilitu i účinnost. Celý název sufentanilu je 4-(methoxymethyl)-*N*-phenyl-1-[2-(2-thienyl)ethyl]piperidin-4-amine. Je určen k léčbě akutní silné bolesti a používá se v nemocnicích, chirurgických centrech nebo na urgentních příjmech [9]. V práci je uvedeno, že při dávkách do $8 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ působí analgeticky jako součást celkové anestezie a při dávkách $\geq 8 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ vyvolává hlubokou anestezii bez nutnosti dalších anestetik. Je přibližně 5–10krát silnější než fentanyl a pH jeho roztoku se pohybuje v rozmezí 3,5–6 [10].

Sůl sufentanilu vzniká reakcí zásadité báze sufentanilu s kyselinou citronovou a označuje se jako sufentanil dihydrogencitrát. Její celý název je kyselina 2-hydroxypropan-1,2,3-trikarboxylová *N*-[4-(methoxymethyl)-1-(2-thiofen-2-ylethyl)piperidin-4-yl]-*N*-fenylpropanamid. Molekulová hmotnost je $578,7 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Nástup účinku se pohybuje v rozmezí 1–3 minut a trvání účinku přibližně 20–45 minut. Látka je dobře rozpustná ve vodě a methanolu, omezeně v ethanolu, acetonu a chloroformu [10, 11].



Obrázek 1: Struktura fentanylu a vialka se standardem fentanylu (vlastní zdroj)

3. PRINCIP VIZUÁLNÍ DETEKCE

Princip UV spektroskopie je založen na schopnosti chemických sloučenin absorbovat ultrafialové záření. Absorpce UV světla vede k excitaci elektronů, tedy k jejich přechodu ze základního stavu na vyšší energetickou hladinu. Po excitaci může molekula energii uvolnit několika způsoby. Jedním z nich je fluorescence, při níž dochází k emisi fotonu při návratu molekuly do nižšího energetického stavu [12].

Pro absorpci UV/Vis záření je důležitá přítomnost chromoforu, tedy části molekuly schopné absorbovat záření v UV nebo viditelné oblasti. Chromofory mohou zahrnovat například aromatická jádra, konjugované systémy dvojných vazeb nebo karbonylové skupiny [13]. Absorpce UV/Vis záření nastává u molekul, které obsahují elektrony sdílené ve dvojných vazbách nebo aromatických strukturách, případně volné elektronové páry schopné přechodu na vyšší energetickou hladinu [14]. Schopnost detekce je zároveň ovlivněna koncentrací analytu, protože absorbovaná intenzita záření závisí mimo jiné na koncentraci analyzované látky [15].

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Experiment byl proveden jako orientační vizuální screening fentanylové báze a injekčních roztoků fentanylu a jeho derivátů pomocí ultrafialového záření. Konkrétně byly sledovány vzorky sufentanilu dihydrogencitrátu, fentanylu, alfentanilu hydrochloridu, remifentanilu a fentanylové báze. Cílem experimentu bylo posoudit, zda barva papírového nosiče ovlivňuje možnost vizuální detekce sledovaných látek při ozáření UV zářením.

Vzorky byly nanášeny ve formě kapek na papírové podklady různých barev. Použity byly papíry bílé, tmavě modré, světle modré, žluté, růžové, tmavě zelené, světle zelené, oranžové a černé barvy. Měření probíhalo po 1., 5. a 60. minutě od nanesení vzorku. Vzorky byly pozorovány při dvou vlnových délkách, a to 254 nm a 366 nm, pomocí UV lampy CAMAG.

Do experimentu byly zařazeny tyto analyty:

- sufentanil dihydrogencitrát, 50 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, Torrex, inj. roztok;
- fentanyl dihydrogencitrát, 50 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, Torrex, inj. roztok;
- alfentanil hydrochlorid, 50 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, Rapifen, inj. roztok;
- remifentanil, hydrochlorid 50 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, Ultiva, inj. roztok;
- fentanylová báze, 0,5 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, firma TRC Kanada

Fentanylová báze byla sledována v rozpouštědle dichlormethanu.

5. VÝSLEDKY A DISKUSE

5.1 Injekční roztoky derivátů fentanylu

U injekčních roztoků derivátů fentanylu byla vizuální odezva obecně omezená. V rámci sledovaných vzorků byl nejvýraznější výsledek zaznamenán u remifentanilu hydrochloridu. Látka o koncentraci $50 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ vykazoval vizuální změnu nejen na žlutém papírovém podkladu při vlnových délkách 254 nm a 366 nm, ale také na růžovém a světle zeleném papírovém podkladu při 254 nm. Změna byla patrná ve všech sledovaných časových intervalech, tedy po 1., 5. i 60. minutě od nanesení vzorku, přičemž nejvýraznější byla v 1. minutě po aplikaci.

Výraznější odezvu remifentanilu hydrochlorid nelze jednoznačně přisuzovat pouze samotnému derivátu fentanylu. V úvahu je nutné zahrnout také možné působení dalších látek přítomných v injekčním roztoku např. glycinu, který mohl ovlivnit výsledný optický projev stopy při ozáření UV zářením. Současně je nutné zohlednit i vliv samotného papírového podkladu, zejména u žlutého papíru, kde mohla být pozorovaná odezva ovlivněna vlastnostmi papíru, jeho zbarvením nebo použitými barvivy.

Z tohoto důvodu nelze vizuální změnu jednoznačně přisuzovat pouze samotnému derivátu fentanylu, ale je nutné ji chápat jako výsledek kombinace analytu, pomocných látek v roztoku, podkladu a použité vlnové délky UV záření. Reakce vzorků po ozáření UV světlem je zaznamenána na obrázcích 2 a 3.



Obrázek 2: Vizuální projevy injekčních roztoků sufentanilu, fentanylu, alfentanilu a remifentanilu na žlutém papírovém podkladu. Měření provedeno 5 minut po nanesení, při λ 254 nm. 1 - sufentanil dihydrogencitrát; 2 - fentanyl; 3 - alfentanil hydrochlorid; 4 - remifentanil.



Obrázek 3: Vizuální projevy injekčních roztoků derivátů fentanylu na červeném papírovém podkladu. Měření provedeno 1 minutu po nanesení, při λ 254 nm. 1 - sufentanil dihydrogencitrát; 2 - fentanyl; 3 - alfentanil hydrochlorid; 4 - remifentanil.

5.2 Fentanylová báze

U fentanylové báze rozpuštěné v dichlormethanu byla pozorovatelná odezva zaznamenána především při vlnové délce 254 nm. Na světle zeleném papíru byl při 254 nm patrný světlý kruh s tmavou tečkou ve středu. Při 366 nm byla změna zanedbatelná nebo nebyla pozorována.

Časový vývoj vzhledu stopy pravděpodobně souvisel s rychlým odpařováním dichlormethanu a následným přerozdělením rezidua analytu na povrchu papíru. Z tohoto důvodu nelze pozorovaný světle fialový bod jednoznačně interpretovat jako fluorescenci fentanylové báze bez dalšího ověření. Výsledný efekt mohl být ovlivněn také lokálním soustředěním analytu nebo změnou optických vlastností stopy po odpaření rozpouštědla.

5.3 Vliv podkladu, vlnové délky, času a koncentrace vzorku

Vizuální detekce fentanylu a jeho derivátů pomocí UV záření je výrazně závislá na kombinaci několika faktorů. Rozhodující byl druh analytu, jeho koncentrace, vlnová délka použitého UV záření, příkon UV lampy, barva papírového podkladu, použité rozpouštědlo a doba po nanesení vzorku. V experimentu byly injekční roztoky sufentanilu dihydrogencitrátu, fentanylu, alfentanilu hydrochloridu a remifentanilu hydrochloridu testovány při koncentraci $50 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, zatímco fentanylová báze byla sledována při koncentraci $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Pozorování probíhalo pomocí UV lampy CAMAG o příkonu 8 W při vlnových délkách 254 nm a 366 nm.

Největší význam měla vlnová délka 254 nm, při níž byly zaznamenány nejvýraznější změny zejména u remifentanilu hydrochloridu a fentanylové báze. Vlnová délka 366 nm poskytovala omezenější odezvu. Výsledky tak ukazují, že samotná přítomnost sledované látky nemusí být pro vizuální detekci dostačující, protože výsledný optický projev je ovlivněn také koncentrací vzorku, intenzitou použitého zdroje UV záření a podmínkami pozorování.

Z hlediska papírových podkladů byly u sledovaných vzorků významné zejména žlutý, růžový a světle zelený papír. Tyto podklady umožnily pozorování změn u remifentanilu hydrochloridu, případně u fentanylové báze. Na ostatních barevných podkladech nebyly vizuální změny zřetelné nebo nebyly zaznamenány. U žlutého podkladu je nutné zohlednit také možný vliv samotného papíru, jeho zbarvení a optických vlastností při ozáření UV zářením.

6. ZÁVĚR

Vizuální detekce návykových látek pomocí UV světla představuje poměrně jednoduchou, rychlou a nedestructivní orientační metodu založenou na schopnosti některých látek absorbovat nebo emitovat záření v ultrafialové oblasti. Neposkytuje jednoznačnou identifikaci konkrétní látky z důvodu možného vlivu příměsí či přítomnosti jiných chemických sloučenin. Některé návykové látky navíc pod UV zářením nevykazují žádnou charakteristickou odezvu. Proto je vhodné případné pozitivní nálezy potvrdit selektivnějšími analytickými metodami. Výhodou vizuální detekce jsou však nízké pořizovací i provozní náklady na vybavení, využitelnost metody přímo v terénu a možnost rychlého screeningu většího počtu vzorků.

Použitá literatura

- [1] AHMED, S.H., A.A. ALTARIFI, R.L. BALSTER, et al. Review article Fentanyl: Receptor pharmacology, abuse potential, and implications for treatment. *ScienceDirect* [online]. 2019 [cit. 2026-05-26]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0149763418302070>
- [2] Fentanyl Citrate. *CID 13810 - PubChem* [online]. b.r. [cit. 2026-05-26]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/13810>
- [3] WILLIAMSON, Jessica a Ali KERMANIZADEH. A Review of Toxicological Profile of Fentanyl—A 2024 Update. *MDPI* [online]. 2024 [cit. 2026-05-26]. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2305-6304/12/10/690>
- [4] Remifentanil. *CID 60815 - PubChem* [online]. b.r. [cit. 2026-05-26]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/60815>
- [5] Remifentanil hydrochlorid. *CID 60814 - PubChem* [online]. b.r. [cit. 2026-05-26]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/60814>
- [6] Alfentanil. *CID 51263 - PubChem* [online]. b.r. [cit. 2026-05-26]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/51263>
- [7] Alfentanil Hydrochloride. *CID 64761 - PubChem* [online]. b.r. [cit. 2026-05-26]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/64761>
- [8] GARG, Anuradha. Forced degradation of fentanyl: identification and analysis of impurities and degradants. *PubMed* [online]. 2010 [cit. 2026-05-26]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20462721/>
- [9] Sufentanil. *CID 41693 - PubChem* [online]. b.r. [cit. 2026-05-26]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/41693>
- [10] Sufentanil Citrate Injection, USP CII. U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. *Drugs@FDA* [online]. 2014 [cit. 2026-05-26]. Dostupné z: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2014/019050s032lbl.pdf
- [11] PubChem Structure Search. *PubChem* [online]. b.r. [cit. 2026-05-26]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/search/search.cgi>
- [12] MCEWEN, Jordan. Jablonski diagram. *Chemistry LibreTexts* [online]. 2023 [cit. 2026-05-26]. Dostupné z: [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_\(Physical_and_Theoretical_Chemistry\)/Spectroscopy/Electronic_Spectroscopy/Jablonski_diagram](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Spectroscopy/Electronic_Spectroscopy/Jablonski_diagram)
- [13] KOPLÍK, Richard. Molekulová absorpční spektrometrie v ultrafialové a viditelné oblasti. *VŠCHT Praha* [online]. b.r. [cit. 2026-05-26]. Dostupné z: https://web.vscht.cz/~koplíkr/UV_VIS_spektrometrie.pdf
- [14] PRATIWI, Restiani A. a Asep Bayu Dani NANDIYANTO. How to Read and Interpret UV-VIS Spectrophotometric Results in Determining the Structure of Chemical Compounds. *ResearchGate* [online]. 2022, 4.1.2022 [cit. 2026-05-26]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/358239725_How_to_Read_and_Interpret_UV-VIS_Spectrophotometric_Results_in_Determining_the_Structure_of_Chemical_Compounds
- [15] Organická analýza - SPEKTRÁLNÍ METODY - UV-VIS spektrofotometrie. *LabRulez LCMS* [online]. 2024, 13.6. 2024 [cit. 2026-05-26]. Dostupné z: <https://lcms.cz/article/4118>

NOVATIVNÍ PŘÍSTUPY K PREVENCI ZDRAVOTNÍCH INCIDENTŮ PŘI CBRN UDÁLOSTI: MONITORING, TECHNICKÉ A UŽIVATELSKÉ ASPEKTY

INNOVATIVE APPROACHES TO PREVENTING HEALTH INCIDENTS DURING CBRN EVENTS: MONITORING, TECHNICAL AND USER ASPECTS

Lýdie Leová^{a*}, Jaroslava Součková^b, Hynek Schvach^b, Jan Hejda^a, Petr Volf^a, Marek Sokol^a, Patrik Kutílek^a

^a České vysoké učení technické v Praze, Fakulta biomedicínského inženýrství, nám. Sítňá 3105, 272 01 Kladno, Česká republika

^b Univerzita obrany, Vojenská lékařská fakulta, Třebešská 1575, 500 02 Hradec Králové, Česká republika

*Korespondující autor. e-mail: leovalyd@fbmi.cvut.cz, tel.: +420 776 631 526

Abstrakt

Moderní ICT technologie umožňující průběžné sledování fyziologických ukazatelů, jako je srdeční a dechová frekvence, variabilita srdeční frekvence nebo vnitřní tělesná teplota, umožňuje včas identifikovat rizikové stavy během zásahů v protichemických ochranných oblecích. Hermeticky uzavřené obleky typu 3 a vyšší tvoří extrémní prostředí, kde nulová evaporace potu vede k akumulaci tepla a rychlému vyčerpání organismu. Vizuální kontrola ani subjektivní pocity zasahujících nemusí stačit k včasnému rozpoznání blížícího se kolapsu. Nasazení nositelných měřicích systémů s kontinuálním monitoringem v reálném čase by tak umožnilo velitelům zásahu objektivní posouzení fyziologického stavu a rozhodnutí o jejich střídání. Příspěvek představuje praktické nástroje pro implementaci telemetrického monitorování, včetně kritérií pro výběr technologie s důrazem na spolehlivost a ergonomii.

Klíčová slova: *nositelný měřicí systém; fyzická a tepelná zátěž; monitoring fyziologických parametrů; protichemický ochranný oblek CBRN; technické a uživatelské aspekty*

Abstract

Modern ICT technologies enabling continuous monitoring of physiological indicators, such as heart and respiratory rate, heart rate variability or core body temperature, allow for timely identification of risk states during interventions in chemical protective suits. Hermetically sealed Type 3 and higher suits create an extreme environment where zero sweat evaporation leads to heat accumulation and rapid exhaustion of the organism. Visual inspection or subjective perceptions of responders may not be sufficient for timely recognition of an impending collapse. The deployment of wearable measurement systems with continuous real-time monitoring would thus enable incident commanders to objectively assess the physiological state and make decisions regarding rotation of personnel. This paper presents practical tools for the implementation of telemetric monitoring, including criteria for technology selection with emphasis on reliability and ergonomics

Key words: *wearable monitoring system; physical and thermal load; physiological parameters monitoring; CBRN chemical protective suit; technical and user aspects*

1. ÚVOD

Zásahy při událostech spojených s chemickými, biologickými, radiologickými či nukleárními (CBRN) látkami představují jednu z nejnáročnějších oblastí činnosti specializovaných složek IZS tj. zejména Hasičské záchranného sboru České republiky a Armády České republiky. V podmínkách Armády České republiky zahrnuje CBRN ochrana mimo jiné radiační a chemický průzkum, detekci a identifikaci nebezpečných látek, odběr a transport vzorků, dekontaminaci, varování a další opatření ochrany sil. Míra použití ochranných prostředků se přitom liší podle konkrétního úkolu a charakteru hrozby; protichemický ochranný oblek představuje pouze jeden z možných scénářů.

Z hlediska ochrany zdraví je proto důležité nesledovat pouze vnější podmínky a charakter CBRN hrozby, ale také individuální odezvu organismu na zatížení. U některých úkolů může být dominantní tepelná zátěž spojená s ochrannými prostředky, u jiných dlouhodobý pohyb s výstrojí, manipulace s materiálem, práce v terénu, psychický stres nebo kombinace těchto faktorů. Práce v plynotěsných ochranných oblecích typu 3 a vyšší vystavuje však zasahující osoby extrémní fyzické i tepelné zátěži. Hermetická izolace, která je nezbytná pro ochranu před nebezpečnými látkami, současně zcela narušuje přirozenou termoregulaci, tj. nulová evaporace potu vede k akumulaci metabolického tepla a riziku tepelného kolapsu během několika desítek minut. Studie zaměřené na fyziologické reakce hasičů při používání ochranných oděvů potvrzují, že nošení těchto oděvů vede k významnému zvýšení tělesné teploty a srdeční frekvence, což zdůrazňuje potřebu efektivních strategií pro řízení tepelného stresu [1, 2, 3].

Vizuální kontrola ani subjektivní hodnocení nemusí vždy dostatečně zachytit postupující únavu, přetížení či zhoršování fyziologického stavu. Současná praxe spoléhá především na orientační časové limity stanovené normami a Bojovým řádem jednotek požární ochrany [4]. Dalším doporučeným přístupem je provádění pravidelných aklimatizačních aktivit v podobě výcviku, který je nařízen minimálně jednou za šest měsíců. Návyk na vyšší tepelnou zátěž vzniká při výcviku v horkém prostředí minimálně třikrát týdně, což je v praxi nereálné [5]. Sledování a vyhodnocování teplotní zátěže u zasahujících se proto jeví jako jediný spolehlivý způsob ke snížení bezprostředního ohrožení života.

Současný rozvoj technologií a nositelných systémů umožňují detailní a kontinuální monitorování fyziologických funkcí a pohybových dat jedince v reálných i experimentálních podmínkách. Díky tomu lze tak včas identifikovat kritické stavy, jako je přehřátí organismu, extrémní psychická zátěž či fyzické vyčerpání [6]. Tyto technologie nacházejí uplatnění nejen ve sportu, každodenním životě, zdravotnictví, ale také i v oblastech jako jsou náročné profese (např. hasiči, policie, vojáci atd.) [7, 8].

2. PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU

2.1 Přehled nositelných měřicích systémů

Z hlediska funkce a využití lze současné přístupy rozdělit do dvou hlavních skupin:

- (1) systémy pro monitorování fyziologického stavu a
- (2) systémy pro hodnocení pohybu a biomechanického zatížení,

přičemž oba přístupy umožňují např. preselekcii, screening (diagnostiku), léčbu (rehabilitaci). Z pohledu vojenského CBRN prostředí je vhodné vnímat nositelný monitoring jako doplněk širšího systému situačního povědomí a ochrany sil. Specializované CBRN jednotky plní úkoly spojené s průzkumem, detekcí, identifikací nebezpečných látek, dekontaminací osob a techniky a s předáváním informací o radiační, chemické a biologické situaci

S ohledem na tato specifika zásahu během CBRN události, kdy podstatné je především real-time sledování a hodnocení zdravotního stavu, se zaměříme na systémy pro monitorování fyziologického stavu. Tato skupina zahrnuje technologie zaměřené na sledování základních fyziologických parametrů především srdeční frekvenci, variabilitu srdeční frekvence (HRV), dechovou frekvenci, dále je sledována například tělesná teplota, vlhkost a další. Na základě měřených parametrů jsou určovány odvozené ukazatele jako je fyzická zátěž [2,3], kognitivní zátěž [9] či úroveň stresu [10, 11, 12]. Pro tyto účely lze použít komerčně dostupné systémy, zdravotnické certifikované systémy či technologie vzniklé v rámci výzkumu a vývoje, viz obr.1. Každá skupina má své výhody i nevýhody.

Komerčně dostupná zařízení, jako jsou např. hrudní pásy, chytré hodinky nebo náramky, prsteny či ušní senzory, umožňují základní monitoring fyziologických funkcí. Jsou primárně určena pro sportovní aktivity a každodenní použití. Jejich výhodou je dostupnost, jednoduchost použití a případně možnost dlouhodobého sledování. Nevýhodou pak nižší přesnost a omezené možnosti interpretace dat [8].

Naopak zařízení pro diagnostiku a klinické monitorování ve zdravotnických zařízeních dosahují vysoké přesnosti a spolehlivosti. Jsou však často omezeny na kontrolované prostředí a pro reálné prostředí během zásahu nepoužitelná s ohledem na velikost, množství kabelů atd [6]. Jedná se například o EKG systémy nebo specializované diagnostické přístroje

Systémy vyvíjené v rámci výzkumu jsou často navrhovány pro specifické skupiny uživatelů, například vojáky, policisty nebo hasiče. Oproti běžné spotřební elektronice mohou integrovat více senzorů, umožňovat lokální záznam dat a být konstrukčně přizpůsobeny pohybu, výstroji a náročným podmínkám použití [7, 10, 13]. Významnou otázkou je nejen přesnost samotného senzoru, ale také stabilita záznamu při dynamické činnosti, možnost dlouhodobého nošení a jednoduchost obsluhy v terénu.

Pro potenciální nasazení při vojenských CBRN činnostech jsou rozhodující technologie, které jsou ergonomické, odolné vůči potu, vlhkosti, mechanickému namáhání a změnám prostředí, neomezují pohyb a jsou kompatibilní s běžnou vojenskou výstrojí i s ochrannými prostředky používanými podle konkrétního scénáře. Důležitá je rovněž kontinuita záznamu a možnost spolehlivého přenosu nebo následného vyhodnocení dat.



Obrázek 1: Ukázka komerčních systémů – hodinky Garmin, ultra human ring, tričko Hexoskin, systém Cosinus (vlevo); ukázka zařazení pro snímání EKG (uprostřed); ukázka vývoje multisenzorického zařízení pro monitoring fyziologických a pohybových dat na FBMI v Kladně (vpravo).

2.2 Monitorované parametry a jejich význam

Pro spolehlivou prevenci kolapsu organismu a včasné rozpoznání rizikových stavů je třeba sledovat soubor parametrů, které poskytují komplexní obraz o stavu zasahujícího. Pro komplexní hodnocení stavu zasahujícího je vhodné kombinovat parametry fyziologického stavu s monitoringem dalších parametrů, např. teplotou uvnitř obleku, detekcí nebezpečných látek atd. Mezi klíčové parametry můžeme uvést:

- **Srdeční frekvence** – základní indikátor zátěže. Studie analyzující srdeční frekvenci hasičů během simulovaných zásahů potvrdily, že intenzita fyzické aktivity vede k vysokým hodnotám HR, což zdůrazňuje potřebu kontinuálního monitoringu [2].
- **Variabilita srdeční frekvence** – klíčový ukazatel autonomní rovnováhy a stresové zátěže. Monitoring HRV slouží jako cenově dostupný indikátor míry stresu a únavy zasahujících. Studie potvrzují, že monitorování HRV pomáhá při hodnocení úrovně únavy a stresu během zásahů, což je klíčové pro prevenci nehod [9-13].
- **Vnitřní tělesná teplota** – přímý indikátor tepelného stresu. Podle normy ČSN ISO 9886 je hraniční hodnotou pro neaklimatizované pracovníky 38 °C, pro trénované profesionály 38,5 °C [4]. Přímé měření vnitřní tělesné teploty během standardních zásahů je však náročné, a proto se vyvíjejí nástroje, které tuto teplotu odhadují na základě srdeční frekvence, povrchové teploty a dalších parametrů [14, 15].
- **Dechová frekvence** – doplňkový parametr odrážející míru fyzické zátěže a stresové odezvy [10, 13]. V kontextu zásahu v ochranném obleku navíc úzce souvisí se spotřebou vzduchu v dýchacím přístroji.

- **Pohybová aktivita** – doplňkový parametr umožňující rozeznání fyzické námahy od pasivních stavů, psychického stresu, tepelné zátěže a jiných. Prostřednictvím IMU jednotek poskytující nejen informace o aktivitě, poloze a případném pádu zasahujícího, ale také i kontextovou informaci pro správnou interpretaci dalších fyziologických ukazatelů [16-19].

2.3 Metrologické a datové požadavky na nositelný monitoring

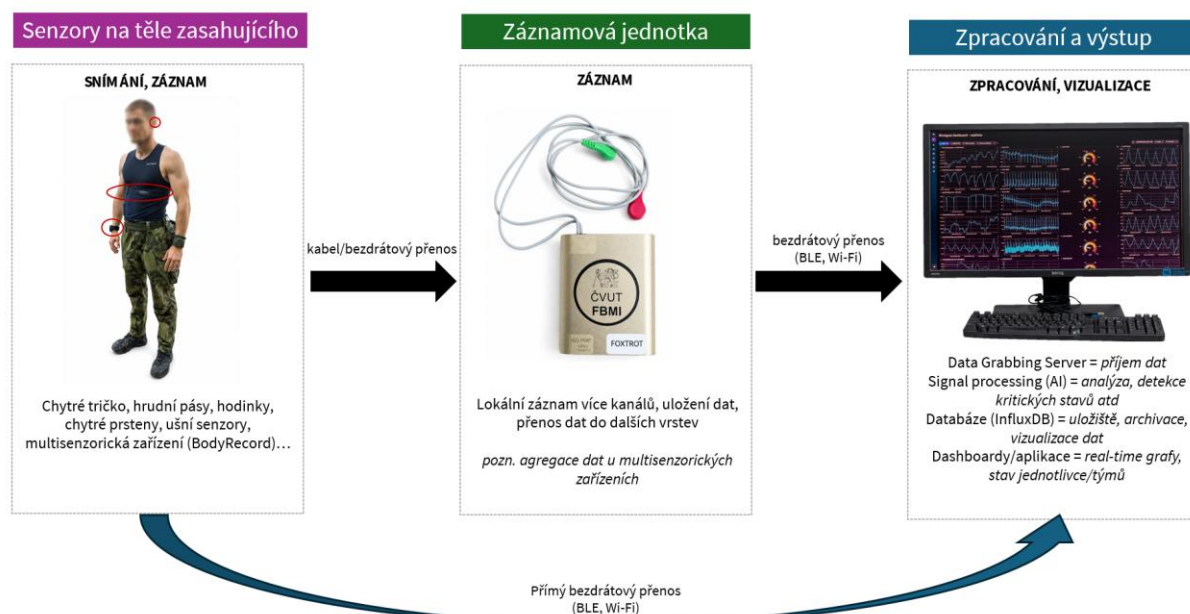
Pro odborné posouzení nositelného systému není dostačující pouze nominální přesnost jednotlivých senzorů. Hodnotit je nutné celý měřicí řetězec od snímače přes lokální předzpracování až po přenos a archivaci dat. Mezi klíčové technické parametry patří vzorkovací frekvence, rozlišení a dynamický rozsah, časová synchronizace kanálů, latence, ztrátovost přenosu, stabilita kontaktu senzoru s tělem, citlivost na pohybové artefakty a dlouhodobý drift. U multimodálního měření je důležitá jednotná časová základna, protože časové posuny mezi EKG, dechovým signálem, elektrodermální aktivitou, teplotou a IMU mohou ovlivnit interpretaci vzájemných vztahů [6, 10, 16].

Součástí zpracovatelského řetězce by proto mělo být automatické hodnocení kvality signálu, detekce výpadků a artefaktů a evidence podílu validních dat. Fyziologické ukazatele je vhodné vztahovat k individuální výchozí hodnotě a k charakteru aktuální činnosti, bez této kontextualizace může stejná hodnota srdeční frekvence nebo HRV odpovídat rozdílnému stupni fyzického, tepelného či psychického zatížení. Pro podporu rozhodování je proto vhodnější využívat trend, kombinaci více parametrů a jejich změnu v čase než izolované překročení jedné prahové hodnoty [7, 9].

3. MOŽNÉ VYUŽITÍ NOSITELNÝCH SYSTÉMŮ

V kontextu vojenských CBRN činností je klíčové, aby použité technologie umožňovaly nejen kontinuální sběr biomedicínských dat, ale podle potřeby také jejich spolehlivý záznam, přenos, zpracování a srozumitelnou prezentaci. Ne každý scénář vyžaduje online přenos k veliteli; pro výcvik, výzkum nebo některé typy nasazení může být stejně důležitý kvalitní lokální záznam pro následnou analýzu. Obecné schéma monitorovacího systému je znázorněno na obrázku 2.

S ohledem na množství a charakter parametrů, které je nezbytné u CBRN zásahu sledovat (srdeční a dechová frekvence, HRV, vnitřní tělesná teplota, pohybová aktivita atd.), se v praxi nejčastěji uplatní multisenzorické systémy. Ty vyžadují integraci dat z více snímačů a jejich centralizovaný přenos, např. přes lokální záznamovou jednotku. Ta zajišťuje sběr dat z jednotlivých senzorů, jejich případné lokální uložení a následný bezdrátový přenos do nadřazené vrstvy. Mezi její hlavní výhody patří zvýšená spolehlivost přenosu (jedno spojení místo mnoha souběžných), nižší energetická náročnost na straně senzorů, lokální záloha dat při výpadku spojení a snazší správa většího počtu uživatelů. Limitujícími faktory jsou naopak přídavná hmotnost, závislost na výdrži baterie a nutnost ergonomického umístění jednotky tak, aby neomezovala pohyb zasahujícího. Toto řešení jsme aplikovali v rámci výzkumného projektu DIANA při monitorování fyziologického stavu posádky v extrémních podmínkách podmorské analogové mise [13].



Obrázek 2: Obecné schéma architektury monitorovacího systému – senzory na těle zasahujícího (snímání), lokální záznamová jednotka (záznam) a serverová vrstva (zpracování a vizualizace).

Poslední vrstvu představuje zpracování a vizualizace dat. Naměřená data mohou být bezdrátově přenášena na velitelské pracoviště, kde jsou přijímána sběrným serverem, ukládána do databáze pro pozdější analýzu a podrobena automatizovanému zpracování. Vzhledem k extrémním podmínkám zásahu (vlhkost, vysoké teploty, intenzivní pohyb) jsou naměřené signály často zatíženy pohybovými a dalšími artefakty, a proto je nezbytné použít robustní algoritmy pro zpracování signálů, ideálně doplněné o metody umělé inteligence pro detekci kritických stavů. Aby velitel zásahu získal srozumitelnou a okamžitě využitelnou informaci o zdravotním stavu jednotlivých členů týmu, jsou zpracovaná data prezentována formou jednoduchého vizuálního rozhraní, například semaforového hodnocení (zelená/oranžová/červená), souhrnných ukazatelů zdravotního stavu nebo grafů vybraných fyziologických parametrů v reálném čase.

3.1 Aplikační oblasti

Nositelné systémy mohou poskytovat doplňkové informace o fyziologickém stavu, zatížení a pohybové aktivitě jednotlivce nebo týmu. V CBRN operacích mohou být tyto údaje kombinovány s informacemi o poloze, charakteru hrozby a průběhu úkolu. Přínosem není nahrazení standardních CBRN detekčních nebo zdravotnických postupů, ale rozšíření situačního povědomí o objektivní informace o osobě, která úkol vykonává.

Průzkum, detekce, identifikace a vzorkování představují činnosti, při nichž se specializovaný personál pohybuje v prostoru s potenciální nebo potvrzenou CBRN hrozbou a současně obsluhuje detekční, odběrové a komunikační prostředky. Nositelné systémy zde mohou sloužit jako doplněk k technologiím charakterizujícím prostředí: zatímco CBRN senzory informují o

přítomnosti a charakteru nebezpečí, fyziologické a pohybové senzory mohou poskytovat informaci o zátěži a stavu samotného uživatele.

Dekontaminační činnosti mohou být spojeny s dlouhodobou fyzickou zátěží, manipulací s technikou a materiálem, opakovanými pracovními úkony a podle scénáře také s použitím ochranných prostředků. Kontinuální monitoring může pomoci zachytit rozdíly v individuální odezvě na zatížení a poskytnout podklady pro hodnocení pracovních cyklů, odpočinku a střídání personálu. Tepelná zátěž je v tomto kontextu jedním z důležitých faktorů, nikoli však jediným sledovaným rizikem.

Záchrané, evakuační a zdravotnické činnosti v CBRN prostředí kombinují fyzickou práci, přesuny osob a materiálu, rozhodování pod časovým tlakem a použití výstroje či ochranných prostředků odpovídajících konkrétní situaci. Nositelné systémy mohou v těchto scénářích poskytovat doplňková data pro objektivnější hodnocení zatížení personálu, zejména pokud je činnost dlouhodobá nebo se její intenzita v průběhu času výrazně mění.

Vojenský a zdravotnický výcvik vytváří důležitý prostor pro ověřování nositelných systémů ještě před jejich případným cíleným nasazením v CBRN scénářích. Terénní výcvik umožňuje hodnotit funkci senzorů při pohybu, práci s výstrojí, proměnlivé intenzitě zatížení, pocení a dalších vlivech, které se v laboratorním prostředí obtížně reprodukuje. Pokud je součástí konkrétního CBRN scénáře také ochranný oděv nebo ochrana dýchacích cest, představuje jejich kompatibilita další samostatný parametr, který je nutné následně cíleně ověřit.

3.2 Multimodální fúze dat a podpora rozhodování

V CBRN scénáři vzniká potřeba prostorově a časově propojit biomedicínská data s údaji o prostředí. Prakticky jde o synchronizaci fyziologických parametrů s polohou uživatele, teplotou a vlhkostí mikroklimatu pod oděvem, údaji CBRN detekce nebo dozimetrie a s informací o fázi plnění úkolu. Takové propojení umožňuje přesněji interpretovat, zda je změna stavu spojena s intenzitou fyzické práce, tepelnou izolací ochranného prostředku, délkou expozice nebo jinou charakteristikou prostředí. Nositelný systém přitom nenahrazuje specializovanou CBRN detekci ani zdravotnickou diagnostiku, ale vytváří další informační vrstvu pro situační povědomí a hodnocení zátěže zasahujícího.

Z hlediska systémové architektury je výhodné část zpracování realizovat přímo na lokální jednotce (edge processing). Lokálně lze provádět filtraci, výpočet základních ukazatelů, kontrolu kvality dat a generování jednoduchých varovných stavů, zatímco centrální vrstva může zajišťovat dlouhodobou archivaci, pokročilou analýzu a vizualizaci více osob. Pro terénní použití je vhodný princip offline-first, kdy dočasná ztráta rádiového spojení nevede ke ztrátě měřených dat a po obnovení komunikace je lokální záznam dosynchronizován s nadřazeným systémem. Tento přístup zvyšuje robustnost monitoringu v podmínkách proměnlivé dostupnosti komunikační infrastruktury [10, 13].

4. PRAKTICKÉ OVĚŘOVÁNÍ V TERÉNNÍCH PODMÍNKÁCH

Vývoj a ověřování nositelných monitorovacích systémů probíhá ve spolupráci s Univerzitou obrany. Terénní testování umožňuje posuzovat využitelnost senzorických technologií při vojenském a zdravotnickém výcviku a v podmínkách spojených s vysokou fyzickou a psychickou zátěží.

4.1 Odborné a technické aktivity spolupráce FBMI a UO ve vztahu k CBRN

Spolupráce FBMI ČVUT a Univerzity obrany není omezena pouze na uživatelské testování komerčních nositelných zařízení. Významnou společnou aktivitou je projekt Ministerstva vnitra ČR VK01020078 „Chytrý systém pro nositelné ochranné pomůcky umožňující dohled a plánování policejních a armádních zásahů“ (2023–2026), řešený za účasti FBMI a Univerzity obrany. Cílem projektu je vytvořit modulární monitorovací a rozhodovací systém integrovatelný do osobních ochranných prostředků, který propojuje uživatelsky optimalizované senzory medicínských a environmentálních dat, telemetrický přenos a expertní metody pro průběžné hodnocení stavu zasahujícího a podporu plánování zásahu.

V odborné rovině společné práce zahrnují definici scénářů a měřicích protokolů pro vojenské a vojensko-zdravotnické činnosti, výběr fyziologických a pohybových ukazatelů, posouzení jejich interpretovatelnosti při vysoké fyzické a psychické zátěži a uživatelské hodnocení technologií. V technické rovině se ověřuje zejména stabilita snímání EKG a odvozených parametrů HR/HRV, záznam pohybových dat z IMU, synchronizace více senzorů, lokální ukládání a bezdrátový přenos dat, odolnost vůči pohybovým artefaktům a kompatibilita s vojenskou výstrojí. Součástí je také vývoj metod zpracování multimodálních biosignálů a algoritmů pro automatizované hodnocení fyzické a kognitivní zátěže [7, 9].

Ve vztahu k CBRN je podstatné propojení dvou informačních vrstev: údajů o stavu člověka a údajů o nebezpečném prostředí. Koncepte společně vyvíjeného systému proto počítá s kombinací biomedicínských a environmentálních senzorů a s jejich společným vyhodnocením. Takový přístup může veliteli nebo zdravotnickému prvku umožnit odlišit narůstající fyziologickou zátěž související s intenzitou práce a ochrannými prostředky od změn vyvolaných okolním prostředím a současně poskytnout podklad pro rozhodnutí o pokračování činnosti, střídání personálu nebo potřebě zdravotnické podpory.

V rámci společných aktivit jsou testovány jak nositelné systémy vyvíjené výzkumným týmem, tak vybrané komerčně dostupné technologie. Cílem není ověřovat pouze jednotlivý senzor v izolovaných podmínkách, ale porovnávat reálnou použitelnost různých řešení: tj. kvalitu a kontinuitu signálu při pohybu, citlivost na pohybové artefakty a pocení, stabilitu záznamu nebo komunikace, ergonomii, kompatibilitu s vojenskou výstrojí a praktickou náročnost obsluhy.

Terénní ověřování bylo dosud realizováno ve dvou odlišných typech vojenského výcviku - dvakrát ve výcvikovém prostoru ve Vyškově při aktivitách skupiny COMMANDOS (r. 2024 a 2025) a dvakrát v Tisé (r. 2025 a 2026) při zdravotnickém výcviku Vojenské lékařské fakulty. Skupina COMMANDOS se zaměřuje na praktický vojenský výcvik a rozvoj dovedností pro vedení malých týmů, zatímco výcvik v Tisé je zaměřen na vojensko-zdravotnickou přípravu, včetně TCCC, odsunu raněných a činností na úrovni ROLE 1. Rozdílný charakter obou prostředí

umožňuje ověřovat stejné monitorovací technologie při různém typu pohybu, zatížení, organizaci činnosti a použití výstroje. V rámci výcviku probíhají také aktivity související s reakcí na CBRN.



Obrázek 3: Příklady terénního ověřování vyvíjených a komerčně dostupných nositelných monitorovacích systémů ve spolupráci s Univerzitou obrany - měření při aktivitách skupiny COMMANDOS ve výcvikovém prostoru ve Vyškově a při zdravotnickém výcviku v Tisé.

Cílem opakovaného terénního testování je identifikovat technologie a měřené parametry, které dokážou poskytovat spolehlivá a interpretovatelná data o fyziologickém zatížení osoby v reálných podmínkách vojenského výcviku, a současně odhalit limity, které se při laboratorním ověřování nemusí projevit. Výsledkem má být podklad pro výběr a další vývoj monitorovacích systémů vhodných pro náročné profesní činnosti a pro následné cílené ověřování ve specifických scénářích, včetně CBRN. Význam v dosavadních měřeních spočívá v ověření základní robustnosti a použitelnosti technologií v terénu před navazujícími specifickými zkouškami.



Obrázek 4: Příklady testovaných nositelných systémů pro monitoring kondice subjektu ve vztahu k prostředí, ve kterém se subjekt nachází. Systém pro monitoring tepelného komfortu je určen k hodnocení vhodnosti struktury a skladby oděvu. Využívá čtyři senzory vlhkosti a čtyři senzory teploty umístěné v jednotlivých vrstvách běžného a ochranného oděvu. Tento koncept umožňuje sledovat teplotní a vlhkostní gradient mezi jednotlivými vrstvami oděvu a hodnotit mikroklimatické podmínky působící na uživatele. Druhým systémem je multisenzorický systém pro měření fyziologických dat určený k hodnocení celkového stavu a zatížení subjektu. Systém zahrnuje senzory pro měření srdeční aktivity, dechové aktivity, kožní vodivosti a pohybové aktivity a umožňuje sběr dalších parametrů využitelných pro komplexní hodnocení kondice subjektu.

4.2 Kritéria technické a experimentální validace

Při laboratorním a terénním ověřování je vhodné oddělit validaci přesnosti samotného senzoru od validace celého systému v reálném použití. První úroveň porovnává měřený parametr s referenční metodou, zatímco druhá hodnotí, zda systém zachová požadovanou funkci při pohybu, pocení, manipulaci s výstrojí, střídání poloh a dlouhodobém nošení. Pro kvantitativní posouzení lze sledovat například průměrnou absolutní nebo kvadratickou chybu vůči referenci, systematickou odchylku a meze shody, podíl validního signálu, četnost artefaktů, latenci, ztrátovost komunikace, dobu autonomního provozu a počet neplánovaných restartů nebo výpadků [7, 16].

Důležitá je rovněž opakovatelnost a reprodukovatelnost výsledků mezi různými osobami a různými dny měření. V experimentálním protokolu by proto měly být evidovány nejen fyziologické proměnné, ale také typ výstroje a ochranných prostředků, poloha senzorů, způsob jejich fixace, teplota a vlhkost prostředí, délka expozice, intenzita činnosti a případné zásahy obsluhy do systému. Teprve kombinace metrologické, technické a uživatelské validace umožní posoudit, zda je technologie vhodná pouze pro výzkumný monitoring, nebo má předpoklady pro další ověřování v operačním CBRN scénáři.

5. DOPORUČENÍ

Na základě realizovaných experimentů a terénních zkušeností lze formulovat základní doporučení pro výběr a nasazení nositelných systémů v náročných vojenských a CBRN činnostech. Požadavky je vhodné posuzovat podle konkrétního scénáře; jiné parametry budou klíčové při dlouhodobém pohybu s výstrojí, jiné při zdravotnické činnosti a další při použití specifických ochranných prostředků.

Z hlediska sledovaných fyziologických parametrů je vhodné kombinovat srdeční frekvenci a HRV s dechovou frekvencí, teplotními parametry a pohybovou aktivitou. Jednotlivé ukazatele je nutné interpretovat v kontextu vykonávané činnosti a podmínek prostředí; samotná překročená hodnota jednoho parametru nemusí být dostatečným podkladem pro rozhodnutí. Pro budoucí CBRN aplikace je proto důležitá synchronizace fyziologických dat s informacemi o pohybu, výstroji, prostředí a průběhu úkolu.

Z technického a uživatelského hlediska je klíčová odolnost senzorů vůči pohybu, potu, vlhkosti a mechanickému namáhání, stabilita kontaktu s tělem, dostatečná výdrž, spolehlivý záznam a jednoduchá obsluha. Systém musí být kompatibilní s vojenskou výstrojí a podle konkrétního CBRN scénáře také s používanými ochrannými prostředky, maskou nebo dýchacím přístrojem. Terénní ověřování je nezbytné právě proto, že některé problémy - například pohybové artefakty, změny kontaktu elektrod nebo výpadky komunikace - se v laboratorním prostředí nemusí projevit ve stejné míře.

Pro přehlednost jsou klíčové silné a slabé stránky nositelných systémů pro náročné vojenské a potenciální CBRN aplikace shrnuty v tabulce 1.

Tab. 1: Souhrnný přehled silných a slabých stránek nositelných systémů pro náročné vojenské a potenciální CBRN aplikace.

Silné stránky	Slabé stránky
- kontinuální monitoring a dlouhodobý záznam - objektivní data o zatížení osoby - možnost propojení fyziologických a pohybových dat - podpora zdravotnického zabezpečení a rozhodování - zpětný záznam pro analýzu výcviku nebo zásahu - možnost integrace do výstroje a dalších systémů	- citlivost některých senzorů na pohyb, pot a změny kontaktu - ergonomické omezení při kombinaci s výstrojí nebo ochrannými prostředky - přídavná hmotnost a omezená výdrž baterie - riziko výpadků komunikace - nutnost validace a individuální interpretace dat - ochrana osobních údajů a absence jednotného standardu

6. ZÁVĚR

Nositelné systémy představují perspektivní doplněk pro zvýšení bezpečnosti a objektivizaci hodnocení zatížení při náročných vojenských činnostech, včetně potenciálního využití v CBRN prostředí. Jejich hlavním přínosem je možnost dlouhodobě a objektivně sledovat fyziologické a pohybové parametry osoby a vztahovat je ke konkrétní činnosti, výstroji a podmínkám prostředí. Takto získaná data mohou podpořit zdravotnické zabezpečení, hodnocení výcviku i rozhodování o pracovním zatížení a střídání personálu.

Další vývoj by měl směřovat k robustním, modulárním a uživatelsky přívětivým systémům, které lze používat v různých typech vojenského výcviku a následně cíleně ověřovat ve specifických CBRN scénářích. Dosavadní terénní měření ve Vyškově a Tisé poskytují zkušenosti s funkčností vyvíjených i komerčních technologií při reálném pohybu a zátěži, nikoli však důkaz jejich funkčnosti v protichemickém ochranném obleku. Takové použití musí být před případným operačním nasazením ověřeno samostatně, včetně kompatibility s konkrétními ochrannými prostředky a požadavky daného CBRN úkolu.

Z technického hlediska by měl výsledný systém poskytovat nejen měřenou hodnotu, ale také informaci o její kvalitě a spolehlivosti. Pro rozhodovací podporu v CBRN prostředí je zásadní, aby algoritmus dokázal rozlišit fyziologickou změnu od artefaktu měření a aby výsledné varování bylo založeno na kombinaci trendu, kontextu činnosti a více nezávislých parametrů. Takový přístup snižuje riziko falešných alarmů a současně vytváří transparentnější podklad pro rozhodnutí velitele nebo zdravotnického pracovníka.

Poděkování

Toto práce byla podpořena projektem studentské grantové soutěže SGS - 1612604G000 „Využití kvantových výpočtů pro analýzu biosignálů osob vystavených vysoké fyzické a psychické zátěži“.

Použitá literatura

- [1] AGOSTINELLI P. J. et al.: The influence of personal protective equipment on heat strain and thermal comfort of firefighters. In *Applied Ergonomics*, 2023.
- [2] WILLIAMS-BELL F. M.: Heart rate response during simulated firefighting activities. In *Journal of Occupational Health*, 2022.
- [3] ILMARINEN R.: Physiological responses of firefighters wearing protective clothing during simulated interventions. In *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 2015.
- [4] Generální ředitelství HZS ČR: Bojový řád jednotek požární ochrany – taktické postupy zásahu. Metodický list č. 22: Nebezpečí přehřátí. Praha: MV-GŘ HZS ČR, ve znění pozdějších změn.
- [5] NOVÁK J.: Aklimatizace organismu na vysokou tepelnou zátěž u zasahujících složek IZS. 2020.

- [6] KUTÍLEK P.; VOLF P.; VÍTEČKOVÁ S.; SMRČKA P.; LHOTSKÁ L.; HÁNA K.; KŘIVÁNEK V.; DOSKOČIL R.; NAVRÁTIL L.; HON Z.; ŠTEFEK A.: Wearable Systems and Methods for Monitoring Psychological and Physical Condition of Soldiers. In *Advances in Military Technology*, vol. 12, no. 2, pp. 259–280, 2017. DOI 10.3849/aimt.01186.
- [7] LEOVÁ L.; KŘIVÁNEK V.; SCHVACH H.; SOKOL M.; VOLF P.; HEJDA J.; KUTÍLEK P.: The Use of Wearable Systems for Measuring Biomedical Data in Special Units – Current State and User Evaluation. In *Advances in Military Technology*, vol. 20, no. 2, pp. 511–528, 2025. DOI 10.3849/aimt.02024.
- [8] LEOVÁ L.; VOLF P.; SOKOL M.; HEJDA J.; HYBL J. et al.: Appropriate Placement of Electrodes for ECG Measurements in Military and Police Force. In *International Conference on Applied Electronics*, 2024. DOI 10.1109/AE61743.2024.10710307.
- [9] SOKOL M.; HEJDA J.; VOLF P.; LEOVÁ L.; KUTÍLEK P.: Efficient Cognitive Load Decoding Using Causal Spatiotemporal Patterns from Multimodal Physiological Signals. In *Computers in Biology and Medicine*, 2025. DOI 10.1016/j.combiomed.2025.111063.
- [10] HEJDA J.; KUTÍLEK P.; VOLF P.; SOKOL M.; LEOVÁ L. et al.: Wearable System for Monitoring the Physical Conditions in Isolated, Confined and Extreme Environments. In *Proceedings of the 2024 21st International Conference on Mechatronics – Mechatronika (ME)*, 2024. DOI 10.1109/ME61309.2024.10789688.
- [11] KUTÍLEK P.; HON Z.; LEOVÁ L.; VOLF P.; SOKOL M.; HEJDA J.; KOTOLOVÁ V.; STANĚK M.: Monitoring biomedicínských dat a virtuální realita ve výcviku příslušníků policie. In *SPEKTRUM*, vol. 2024, no. 2, pp. 17–23, 2024. ISSN 1804-1639.
- [12] LEOVÁ L.; MOLEK M.; VOLF P.; SOKOL M.; HEJDA J.; HON Z.; BUREŠ M.; KUTÍLEK P.: Monitoring of First Responders Biomedical Data During Training with Innovative Virtual Reality Technologies. In *Big Data and Cognitive Computing*, vol. 9, no. 10, pp. 1–22, 2025. ISSN 2504-2289. DOI 10.3390/bdcc9100251.
- [13] SOKOL M.; VOLF P.; HEJDA J.; LEOVÁ L.; HÝBL J. et al.: DIANA: An underwater analog space mission. In *Acta Astronautica*, 2025. DOI 10.1016/j.actaastro.2024.10.044.
- [14] JEKLIN A. T.; PERROTTA A. S.; DAVIES H. W.; BREDIN S. S. D.; PAUL D. A.; WARBURTON D. E. R.: The association between heart rate variability, reaction time, and indicators of workplace fatigue in wildland firefighters. In *International Archives of Occupational and Environmental Health*, vol. 94, no. 5, pp. 823–831, 2021. DOI 10.1007/s00420-020-01641-3.
- [15] KIM S.: Prediction of firefighters' thermal strain based on heart rate while wearing protective clothing. Seoul National University, 2018.
- [16] HEJDA J.; SOKOL M.; LEOVÁ L.; VOLF P.; TONNER J.; HSU W.; LIN Y.; SUGIARTO T.; ROZLOŽNÍK M.; KUTÍLEK P.: Multimodal Wearable Monitoring of Exercise in Isolated, Confined, and Extreme Environments: A Standardized Method. In *Proceedings*, vol. 101, no. 1, p. 15, 2024. DOI 10.3390/proceedings2024101015.
- [17] VOLF P.; HEJDA J.; SOKOL M.; LEOVÁ L.; LIN Y.; SUGIARTO T.; KUTÍLEK P.: RGB-D Motion Capture System for Monitoring Health Conditions of Employees in Physically Demanding Professions. In *International Conference on Biomedical and Health Informatics (ICBHI 2024)*, IFMBE Proceedings, vol. 111, pp. 33–42, Cham: Springer Nature Switzerland, 2025. ISBN 978-3-031-86323-3. DOI 10.1007/978-3-031-86323-3_4.
- [18] HEJDA J.; FISCHER A. G.; LEOVÁ L.; VOLF P.; SOKOL M.; KUTÍLEK P.: Design of a Multimodal Biomechanical System for Predicting Stress Fractures in High-Risk Occupations. In *Proceedings of the 2025 International Conference on Applied Electronics, IEEE*, 2025. DOI 10.1109/AE66163.2025.11197756.
- [19] HEJDA J.; VOLF P.; SOKOL M.; LEOVÁ L.; KUTÍLEK P.: Spinal Curvature Estimation Using Low-Cost Portable Sensors. In *International Conference on Biomedical and Health Informatics (ICBHI 2024)*, IFMBE Proceedings, vol. 111, pp. 25–32, Cham: Springer Nature Switzerland, 2025. ISBN 978-3-031-86323-3. DOI 10.1007/978-3-031-86323-3_3.

VYUŽITÍ VODIVOSTNÍHO IDE SENZORU PRO DETEKCI NÍZKÝCH KONCENTRACÍ PLYNNÉHO PEROXIDU VODÍKU

USE OF A CONDUCTIVITY SENSOR TO DETECT LOW CONCENTRATIONS OF GASEOUS HYDROGEN PEROXIDE

Vladimír Obšel^{a*}, Lukáš Králík^b, Pavel Otřísal^c

^a DEZA - Detekce a záchyt škodlivin, Hochmanova 1, 62800 Brno, Česká republika

^b Státní ústav jaderné, chemické a biologické ochrany, v. v. i., tř. Kpt. Jaroše 5, 602 00 Brno, ČR

^c Fakulta tělesné kultury, Univerzita Palackého v Olomouci, třída Míru 117 771 11 Olomouc, ČR

*Korespondující autor. e-mail: vobsel@seznam.cz tel.: +420 603 209 001

Abstrakt

Článek popisuje přípravu vodivostního IDE senzoru s detekční vrstvou z vodivých polymerů pro měření nízkých koncentrací plynného peroxidu vodíku vyvinutý firmou DEZA ve spolupráci se SÚJCHBO, v.v.i. Pro měření koncentrace plynného peroxidu vodíku bylo využito již existující zařízení KONDUKTOTEST s převodníkem pro připojení planárních senzorů s hřebínkovými elektrodami. IDE senzory využívají hřebínkové elektrody na nevodivém substrátu pokryté detekční vrstvou, jejíž odpor se při kontaktu s chemickou látkou výrazně mění. Po velmi jednoduché přípravě detekční vrstvy na bázi polyanilinu (PANI) a polypyrrolu (PPy) umožňuje senzor průběžnou a reverzibilní detekci peroxidu vodíku v plynné fázi. Pro detekční vrstvu byly zvoleny zejména vodivé polymery PANI a PPy díky dostupnosti, jednoduché přípravě a stabilitě. Výsledkem projektu bylo podání a následné udělení patentu č. 310476 (17. 7. 2025) s názvem „Způsob přípravy detekční vrstvy vodivostního senzoru pro stanovení plynného peroxidu vodíku“.

Klíčová slova: peroxid vodíku, KONDUKTOTEST, senzor, polyanilin, polypyrrol, detekce

Abstract

A paper describes the development of a conductivity IDE sensor with a detection layer made of conductive polymers for measuring low concentrations of gaseous hydrogen peroxide, developed by DEZA in collaboration with National Institute for NBC Protection. An existing KONDUKTOTEST device with a converter for connecting planar sensors with comb electrodes was used to measure the concentration of hydrogen peroxide gas. IDE sensors utilize comb electrodes on a non-conductive substrate covered with a detection layer whose resistance changes significantly upon contact with a chemical substance. After a very simple preparation of the detection layer based on polyaniline (PANI) and polypyrrole (PPy), the sensor enables continuous and reversible detection of hydrogen peroxide in the gas phase. The conductive polymers PANI and PPy were selected for the detection layer primarily due to their availability, ease of preparation, and stability. A project resulted in the filing and subsequent granting of Patent No. 310476 (July 17, 2025) titled “Method for Preparing a Detection Layer of a Conductivity Sensor for Determining Gaseous Hydrogen Peroxide.”

Key words: hydrogen peroxide, KONDUKTOTEST, sensor, polyaniline, polypyrrole, detection

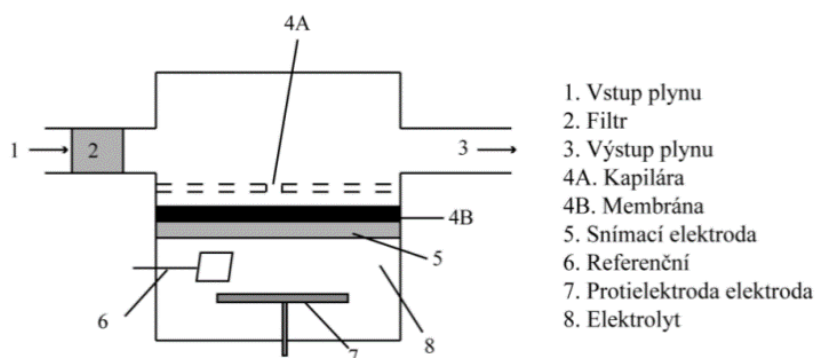
1. ÚVOD

Článek seznamuje s některými cíli řešení rozvojového projektu inovace metodik a postupů, které jsou v rámci výzkumné činnosti využívány v Laboratoři chemického monitorování a ochrany Státního ústavu jaderné, chemické a biologické ochrany v Brně. Předmětem řešení byl vývoj a optimalizace chemirezistivního senzoru pro sledování koncentrace plynného peroxidu vodíku s využitím metodiky a zařízení KONDUKTOTEST, která byla dosud používána pro zjišťování odolnosti ochranných bariérových materiálů proti pronikání toxických plynů a kapalin v souladu s normou ČSN EN 16523-1. Motivací pro tento vývoj byl neuspokojivý způsob měření koncentrace plynného peroxidu vodíku v deaktivačním a dekontaminačním prostředku tzv. Peroxidovém boxu, vyvinutém v rámci projektu bezpečnostního výzkumu VI20172020069.

2. TEORETICKÁ ČÁST – PŘEHLED DOSAVADNÍCH POZNATKŮ

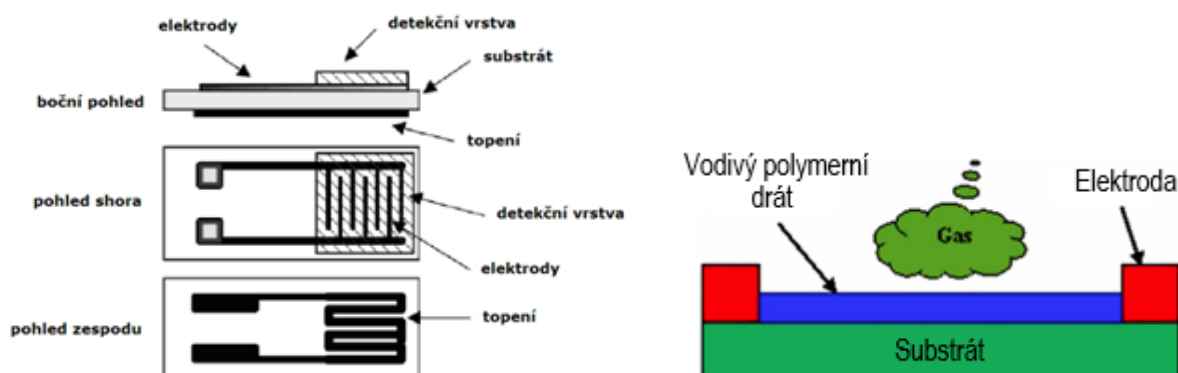
Peroxid vodíku (H_2O_2) je klíčovou molekulou v mnoha fyziologických, průmyslových a environmentálních procesech. K jeho stanovení se používá řada různých analytických metod. Vedle kolorimetrie, luminiscence, fluorescence a jodometrie se velmi často využívají také elektrochemické postupy umožňující buď jeho přímé nebo nepřímé enzymatické stanovení. Volba vhodné metody stanovení závisí na tom, zda se H_2O_2 stanovuje v plynné nebo kapalně fázi. V plynné fázi se stanovuje většinou přímo, v kapalně obvykle jako vedlejší složka biologických nebo environmentálních substrátů.

Peroxid vodíku v podobě různě koncentrovaného vodného roztoku je jedním z nejpoužívanějších činidel při sterilizaci a dezinfekci v lékařské praxi i jako průmyslové oxidační a dekontaminační činidlo nebo jako součást ochrany při skladování potravin. Je však nutné si uvědomit, že expozice peroxidem vodíku může organismus vážně poškodit a narušit jeho zdraví. Dnes existuje řada elektrochemických metod pro detekci H_2O_2 vhodných pro jeho stanovení v kapalně fázi, ale jen málo postupů vhodných pro jeho stanovení v plynné fázi. Je to způsobeno nejen oxidační aktivitou jeho molekuly, ale i její koexistencí s parami vody. Pro monitorování koncentrace plynného H_2O_2 se v současné době nejčastěji používají komerční ampérometrické senzory, jejichž princip je zřejmý z obrázku 1.



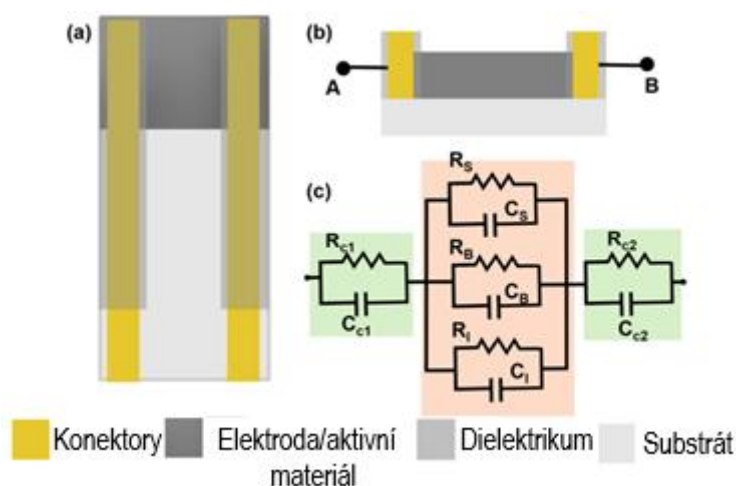
Obrázek 1: Princip ampérometrického plynového senzoru

Ve vztahu k řešenému problému se předmětem zájmu staly především chemirezistivní senzory s detekční vrstvou na bázi vodivých polymerů, jejichž princip je zřejmý z obrázku 2. Z obrázku je patrný i způsob nanášení detekční vrstvy na interdigitální elektrody chemirezistoru. Obecně se tedy chemirezistor skládá z aktivní detekční vrstvy, kontaktních interdigitálních elektrod, nosného substrátu a integrovaného topení. Teoreticky platí, že chemirezistivní senzory převádějí změny probíhající při chemické reakci analytu s detekční vrstvou senzoru na změnu proudu, odporu nebo vodivosti.



Obrázek 2: Princip vodivostního plynového senzoru (chemirezistoru) s interdigitálními elektrodami

Z obrázku 3 jsou zřejmé základní informace o konstrukci, funkci a zapojení chemirezistoru s detekční vrstvou, která může být vytvořena různými způsoby.



Obrázek 3: (a) Pohled shora na chemirezistivní senzor se 4 hlavními součástmi: aktivní materiál (tmavě šedá), konektory nebo kontakty (zlatá), dielektrikum k izolaci kontaktů (šedá) a substrát (světlé šedá) (b) Příčný řez chemirezistivním senzorem se dvěma připojovacími výstupy (c) Analogový elektrický obvod pro chemirezistivní senzor s R_{c1} a R_{c2} , přechodový odpor pro první a druhý kontakt, zatímco R_S , R_B a R_I jsou řešením, objemovým a mezifázovým odporem. Podobně jako u odporu je kapacita všech povrchů označena odpovídajícím způsobem.

V posledních letech se problematikou detekce a stanovení peroxidu vodíku zabývala řada autorů [1-11]. Tyto zdroje poskytly detailní vhled do této problematiky a zároveň poskytly přehled o různých typech senzorů a způsobech jejich použití. Autoři se ve svých pracích zabývali porovnáním jejich flexibility, stability, nákladovostí, detekčními limity, možnostmi výroby a způsoby jejich využití. Byly diskutovány výhody a nevýhody různých konstrukčních řešení senzorů a substrátů, které byly pro návrhy detekčních senzorů H_2O_2 použity. Mezi často používané substráty patří např. membrány obsahující oxidy grafenu, dále tkaniny z uhlíkových nebo grafenových vláken, polymerní fólie, papír z celulóзовých, skleněných nebo křemenných mikrovláken, tenké skleněné nebo křemíkové destičky apod. Některé z těchto substrátů obsahují nanostrukturované formy Pt, Au, Ag, MnO_2 , Fe_3O_4 nebo vodivých polymerů pro zvýšení výkonu senzorů. Náš zájem se však soustředil zejména na elektrochemické metody pro stanovení peroxidu vodíku v plynné fázi s využitím vodivostních senzorů s interdigitálními elektrodami a detekční vrstvou na bázi vodivých polymerů.

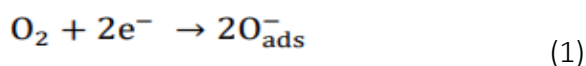
Obsáhlý přehled elektrochemických metod pro monitorování H_2O_2 vodivostními senzory poskytuje studie Pately a kol. z roku 2021 [1], která se zabývá i chemirezistivními a konduktometrickými senzory, včetně tranzistorů s efektem pole. U jednotlivých typů těchto senzorů uvádí autoři i stručné popisy snímacích mechanismů i jejich hodnocení z hlediska citlivosti, detekčního limitu, rozsahu měření, doby odezvy i doby zotavení senzoru.

Informace získané rešerší a dosavadní zkušenosti při vývoji chemirezistivních senzorů využívaných ke sledování nízkých koncentrací jiných toxických látek (např. H_2S , NH_3 , HCl , par organických rozpouštědel apod.), ukazují možnost využití námi připraveného chemirezistivního senzoru i ke sledování koncentrace plynného peroxidu vodíku. K tomuto účelu již dnes existuje řada různých metod. Vedle komerčních průmyslových plynových senzorů se pro jeho laboratorní stanovení používají zejména kolorimetrické, chemiluminiscenční nebo fluorescenční metody a postupy. Tyto optické techniky však většinou vyžadují drahé přístrojové vybavení a kvalifikovanou obsluhu. Oproti tomu elektrochemické metody, jako je ampérometrie nebo voltametrie, pracují většinou s jednodušším přístrojovým vybavením a levnějšími senzory s rychlou odezvou. Vývoj byl proto zaměřen hlavně na využití chemirezistivního senzoru s detekční vrstvou na bázi vodivých polymerů.

Vodivé polymery představují významnou třídu organických materiálů, které díky své elektrické vodivosti, chemické citlivosti a snadné modifikovatelnosti nacházejí široké uplatnění v oblasti chemických senzorů. Jejich využití pro detekci plynného peroxidu vodíku (H_2O_2) je obzvláště perspektivní, protože umožňuje vývoj citlivých, miniaturizovaných a nízkonákladových senzorů vhodných i pro environmentální monitoring, průmyslovou bezpečnost i biomedicínské aplikace. Pro detekci H_2O_2 se nejčastěji využívají polyanilin (PANI), polypyrol (PPy) a polythiofen. PANI se vyznačuje vysokou stabilitou a při oxidaci výraznou změnou vodivosti a v kombinaci se stříbrnými nanočásticemi se jeho elektrochemickou odezva na H_2O_2 ještě výrazně zvyšuje. PPy, který je rovněž snadno připravitelný, je dobře vodivý a vhodný zejména pro tvorbu tenkých filmů. Po adsorpci rychle reaguje s oxidujícími plyny, což umožňuje rychlou odezvu i při reakci s plynným H_2O_2 . Dále je to polythiofen a jeho deriváty, které jsou stabilní vůči vlhkosti i teplotě, a proto jsou vhodné pro dlouhodobé monitorování.

Chemorezistivní senzory byly původně vyvinuty k detekci plynů nebo par různých těkavých látek, ale používají se i pro měření H_2O_2 v plynném nebo kapalném prostředí. Tyto senzory se skládají ze dvou hlavních součástí: aktivního tenkého filmu a elektrických kontaktů. Často se používají v kompozitech s kovovými ionty nebo oxidy kovů. Jeden z prvních H_2O_2 chemirezistivních senzorů byl připraven z PPy a nanotubic (dále jen „CNT“). Chemický odpor tohoto senzoru lze měnit různou modifikací aktivní detekční vrstvy připravené z různých vodivých nebo polovodivých materiálů. Kontaktní elektrody byly zhotoveny buď z vodivého uhlíku, nebo kovových materiálů jako je platina, zlato, stříbro nebo měď. Senzory byly hodnoceny na základě tří parametrů: měřicího rozsahu, detekčního limitu a doby odezvy. I když jsou CNT v senzorech často používány k přípravě detekčních vrstev vzhledem k dobré citlivosti na změnu odporu v důsledku vazby analytu na velký povrch v poměru k objemu a kvůli dobré elektrické vodivosti představují CNT i určité problémy jako je vysoká cena a špatná rozpustnost v běžných rozpouštědlech, což vede k nestabilním disperzím, které ovlivňují spolehlivost senzorů při jejich výrobě.

K měření H_2O_2 , jehož koncentrace je úměrná obsahu cukru enzymaticky uvolněného z glukózy, byly použity chemirezistivní senzory se substrátem z oxidů kovů. Například pro stanovení byl použit nanostrukturovaný film SnO_2 s imobilizovanou glukózooxidázou (dále jen „GOD“) na substrátu z oxidu hlinitého. Citlivost vrstvy SnO_2 pro H_2O_2 je zde způsobena adsorpcí molekulárního kyslíku (reakce 1) a jeho redukcí po extrakci elektronů z vodivého pásu filmu SnO_2 .



Extrakce elektronů zde zvyšuje potenciální bariéru, což vede ke snížení vodivosti. Působením GOD se glukóza přemění na kyselinu glukonovou a H_2O_2 , kyselina glukonová se dále přeměňuje na D-glukonát a H^+ . Tento H^+ a H_2O_2 reagují s O_{ads}^- a tím dojde k uvolnění elektronu z vodivého pásu filmu oxidu cínu, což má za následek zvýšení odporu. Nevýhodou je, že film oxidu cínu se připravuje za přítomnosti katalyzátoru při teplotě 450 °C.

SnO_2 se zakázaným pásmem 3,2 eV (při pokojové teplotě) je v plynových senzorech H_2O_2 široce používán. Vrstva SnO_2 je citlivá na H_2O_2 prostřednictvím adsorpce molekulárního kyslíku. Levný flexibilní a jednorázový senzor pro detekci glukózy byl na tomto principu připraven s použitím celulózy a SnO_2 . Substrát z regenerované celulózy byl rotačně nanesen na křemíkový substrát a vytvrzený SnO_2 byl nanesen na povrch regenerovaného celulóзовého filmu ponořením substrátu do roztoku SnO_2 , kde byl ponechán. Delší doba ponoření vedla ke zvýšení proudu, což může být způsobeno zvýšením množství krystalů SnO_2 rostoucích v průběhu času, čímž se zlepšuje krystalinita vyrostlé vrstvy. GOD byl imobilizován fyzisorpcí, když byl ponechán substrát celulózy s SnO_2 v roztoku glukózy po dobu 16 hodin. Senzor vykazoval lineární odezvu na glukózu a nabízí levnou alternativu k enzymovým senzorům H_2O_2 . Má však omezený rozsah měření a vyžaduje vysoký potenciál (až 3V) detekce, což vede k interferenci s jinými koexistujícími sloučeninami přítomnými v analytu.

Jiný typ konduktometrického senzoru se zlatými elektrodami na keramickém substrátu používal pro stanovení H_2O_2 detekční vrstvu z tetra-terc-butyl ftalocyaninu mědi (ttb-CuPc) Detekce

H_2O_2 byla založena na oxidaci jodidových iontů působením H_2O_2 v přítomnosti křenového enzymu (HRP). Nevýhodou je delší doba odezvy (cca 10 min) a nutnost skladování senzoru při 4 °C.

Podobně jako u jiných konduktometrických senzorů H_2O_2 se zlatými elektrodami byl připraven také senzor s detekční vrstvou z polyvinylalkoholu s imobilizovaným enzymem katalázou, která přeměňuje H_2O_2 na vodu. Citlivost senzoru pro H_2O_2 byla asi 20krát vyšší než u ftalocyaninového senzoru a doba odezvy byla méně než 5 minut. Nevýhodou je, že senzor reaguje i na kyanidy jako interferující látku. Jiné typy konduktometrických senzorů pro stanovení H_2O_2 používají k vytvoření detekční vrstvy nanočástice zlata a platiny, které poskytují vysoký poměr povrchu k objemu vedoucího ke zvýšení citlivosti senzoru. Pro některé aplikace detekce H_2O_2 byl použit i grafitický uhlíkový dusitan ($\text{g-C}_3\text{N}_4$) a platinové nanočástice, které napodobují přírodní enzym a v přítomnosti jodidu redukuje H_2O_2 .

Jak bylo uvedeno výše, existují čtyři základní typy plynových senzorů: odporové, optické, elektrochemické a plynové senzory tranzistorového typu (FET). Odporové plynové senzory byly dosud jedním z nejvíce studovaných typů plynových senzorů. Cílové plyny jsou po expozici detekovány měřením změny odporu senzorů. Jsou levné a snadno vyrobitelné. Díky velmi jednoduché struktuře je snadné na ně aplikovat různé snímací materiály jako jsou polovodivé oxidy kovů, uhlíkové nanomateriály na bázi nanotubic nebo grafenu, dichalkogenidy přechodných kovů (TMDC) apod. Ve srovnání se senzory na bázi polovodičů však musí mít větší rozměry, aby se získal se dostatečný pracovní proud. Problémem je i vysoká provozní teplota, což má za následek vysokou spotřebu energie.

Optické senzory plynů zase pro svoji činnost vyžadují světelný zdroj, plynovou kyvetu a detektor světla. Protože každý plyn absorbuje ze světelného zdroje pouze světlo o určité vlnové délce, může být přítomnost cílového plynu detekována a měřena světelným detektorem. Protože princip činnosti souvisí pouze s fyzikálními vlastnostmi cílového plynu a není doprovázen chemickou reakcí mezi molekulami cílového plynu a optickým senzorem, nabízejí optické senzory plynu vysokou stabilitu a dlouhou životnost, rychlou odezvu a vysokou selektivitu. Mají však nevýhody v miniaturizaci, mobilitě a vysoké ceně, takže jejich komercializace je omezená.

Elektrochemické senzory plynu se skládají z pracovní elektrody, protielektrody a roztoku elektrolytu, ve kterém jsou obě elektrody ponořeny. Elektrochemické senzory snímají cílové plyny měřením rozdílu proudu nebo potenciálu mezi dvěma elektrodami generovanými redukční nebo oxidační reakcí na pracovní elektrodě. Jsou citlivé na cílové plyny i při relativně nízkých koncentracích a mají nízkou spotřebu energie. Jsou také levné a nejsou ovlivňovány okolní vlhkostí. Na druhé straně mají elektrochemické senzory malý rozsah provozních teplot, protože roztok elektrolytu v těchto senzorech může při vysokých teplotách nebo nízké vlhkosti vyschnout. Mají krátkou životnost a vyžadují údržbu a častou kalibraci.

Plynové senzory typu FET, tedy Field-Effect Transistor (v češtině zvaný tranzistor řízený elektrickým polem) používají snímací materiál, u kterého po vystavení cílovému plynu dojde k posunu prahového napětí nebo ke změně odtokového proudu. Na rozdíl od předcházejících plynových senzorů mohou být plynové FET senzory velmi malé a kompatibilní s CMOS obvody, tedy Complementary Metal–Oxide–Semiconductor (v češtině známé jako komplementární

struktura kov-oxid-polovodič). Proto mohou být integrovány na jediném čipu a efektivně využívány k implementaci vysoce přesných systémů detekce plynů. Navíc jsou levné a snadno se vyrábějí.

Molekula H_2O_2 je však problematická pro detekci pomocí elektrochemických reakcí. Má pomalou reakční kinetiku. Amperometrické senzory reakční kinetiku urychlují zvýšením potenciálu. Jeho zvýšení však omezuje detekci nízkých koncentrací analytu kvůli vysokému poměru signálu k šumu. U FET senzorů je vliv napětí na vodivost detekční vrstvy nelineární, a proto dochází k zesílení signálu bez rušení. FET senzory lze rozdělit do čtyř hlavních skupin podle aktivního materiálu použitého pro detekci. Jako aktivní materiál se používá buď nitrid křemíku, vodivé polymery, oxidy kovů nebo uhlíkové nanomateriály.

Nitrid křemíku (Si_3N_4) ve spojení s enzymy, jako je HRP [v biochemii a biotechnologiích znamená Horseradish Peroxidase (česky křenová peroxidáza)] vyvolává v přítomnosti H_2O_2 změnu pH, kterou FET citlivě registruje. Kromě přítomného analytu však určuje odezvu i dostupnost kyslíku v roztoku. Pro stanovení H_2O_2 je možno využít též FET s detekční vrstvou na bázi oxidů kovů, které katalyzují jeho rozklad, jako je oxid manganičitý (MnO_2), oxid iridia, oxid lanthanidperovskitu, oxid titaničitý (TiO_2), oxid železitý (Fe_2O_3) a oxid zinečnatý (ZnO). Jeden z prvních použitých oxidů kovů byl MnO_2 , který katalyzoval přeměnu H_2O_2 na H_2O a O_2 . Jiná studie využívá ke stanovení H_2O_2 FET s tenkým filmem TiO_2 . Stále populárnější jsou však nanočástice ZnO díky jejich vysokému specifickému povrchu a účinné imobilizaci enzymů, což vede k vysoké citlivosti FET senzoru. Protože nanočástice ZnO vykazují velmi dobrou odezvu při stanovení H_2O_2 v biologických materiálech, může být ZnO ve spojení s FET senzorem potenciálním kandidátem pro klinickou praxi. Senzory tohoto typu se však používají spíše pro stanovení H_2O_2 v kapalně fázi a pro stanovení v plynné fázi nejsou příliš vhodné.

Uhlíkové nanomateriály, díky jejich vynikajícím mechanickým a elektrickým vlastnostem, jsou používány hlavně pro výrobu biosenzorů. Ve FET senzorech se CNT používají hlavně kvůli jejich vysoké povrchové aktivitě, chemické stabilitě, dobré elektrické vodivosti a vysoké pevnosti v tahu. Použití CNT však naráží na špatnou dispergovatelnost v běžných rozpouštědlech, a proto se k detekci H_2O_2 používají jen málo. Grafen, jako jeden 2D list uhlíku, má vysoký poměr povrchu k objemu. K vytvoření jeho efektivní vrstvy v podobě velkých grafenových listů, lze využít chemické depozice z plynné fáze (CVD) a takto vytvořený grafen se potom snadněji integruje s kontakty a nachází využití v senzorech pro detekci H_2O_2 .

Nanomateriály na bázi uhlíku nabízejí slibné vlastnosti pro ultracitlivé enzymatické H_2O_2 FET senzory s výbornou selektivitou, jednoduchým imobilizačním procesem připojeného enzymu a levné materiály. Pro stanovení H_2O_2 v plynné fázi však nejsou příliš praktické.

Vodivé polymery se používají k výrobě senzorů kvůli jejich schopnosti snadno podléhat oxidaci a redukci, jednoduché polymeraci, reprodukovatelnému ukládání a jejich stabilitě ve vodných roztocích.

Některé z původních H_2O_2 FET senzorů na bázi vodivých polymerů byly zkonstruovány s použitím PANI kvůli jeho dvěma vlastnostem. Za prvé, má tento polymer dva vodivé/izolační přechody indukované elektrochemickou oxidací z leukoemeraldinu (nevodivý) na smaragdin

(vodivý) a další oxidace smaragdinu na pernigranilin (nevodivý). Za druhé, pouze protonovaná forma smaragdinu je vodivá. Proto lze vodivost PANI změnit buď změnou pH roztoku, nebo přítomností redoxních látek v roztoku. Jedním z příkladů je senzor využívající HRP jako enzym, který katalyzuje konverzi H_2O_2 . Polyanilin byl nanesen na uhlíkových elektrodách potřených vodivým stříbrným lakem a působí zde jako donor elektronů bez jakéhokoli vnějšího prostředníka pro přenos elektronů. Bylo prokázáno, že odezva je způsobena oxidací PANI namísto jiných změn, jako je pH, které jsou typické pro reakce katalyzované enzymem. Tento systém však může měřit pouze koncentrace H_2O_2 nižší než 0,5 mM. Je to proto, že odezva senzoru je při vyšší koncentraci inhibována v důsledku tvorby oxyperoxidázy, relativně stabilnější formy enzymu HRP.

Docela zásadní je odpovědět si na některé otázky. Jak enzymy uvolňují z biologických substrátů peroxid vodíku při enzymatické metodě stanovení jeho koncentrace? Oxidázy jsou enzymy, které prostřednictvím oxidačně-redukčních reakcí uvolňují z biologických substrátů peroxid vodíku (H_2O_2). Ty fungují jako biologický katalyzátor, který se na substrát váže jako klíč k zámku a tím urychluje jeho přeměnu. Ze substrátu (například glukózy) se při tomto procesu nejprve uvolní vodík, který reaguje s přítomným kyslíkem za vzniku peroxidu vodíku (H_2O_2) a glukóza se při tomto procesu přemění na kyselinu glukonovou. Důležité přitom je, že koncentrace peroxidu vodíku, vzniklého jako vedlejší produkt, je úměrná množství zreagovaného substrátu [1,2]. Proč tělo vlastně vytváří peroxid vodíku a jak se ho potom zbavuje? Uvolněný peroxid vodíku je využíván imunitním systémem k ničení bakterií a virů. Protože je peroxid vodíku pro buňky toxický, tak jeho přebytek se ihned rozkládá pomocí enzymu katalázy na neškodnou vodu a kyslík. Této rovnováze se říká homeostáza [1-3].

Enzymy reagující se substrátem za vzniku peroxidu vodíku obsahují i testovací proužky pro stanovení hladiny cukru v krvi glukometrem [1]. Jako aktivní reagent je zde nejčastěji využívána glukózooxidáza (GOD) nebo glukózodehydrogenázu (GDH), které v kapce krve reagují s glukózou za vzniku peroxidu vodíku a kyseliny glukonové. [1-4]. Jako chemický mediátor se obvykle používá ferrikyanid draselný (potassium ferricyanide, který přenáší elektrony uvolněné enzymatickou reakcí směrem k vodivým elektrodám zhotovené z tenké vrstvy uhlíku, zlata nebo paladia [1, 2, 3]. Tyto elektrody vedou slabý elektrický proud vzniklý reakcí do glukometru, který ho změří a přepočítá na hladinu cukru v krvi. [1-3]. Základem testovacího proužku glukometru je pevný plast s mikroskopickou komůrkou se samonasávacím efektem (kapilárou) pro rychlý kontakt krve s detekční vrstvou [1-3]. Součástí této detekční vrstvy jsou též stabilizátory a tlumivé roztoky (pufry) udržující stabilní chemické prostředí, aby test fungoval správně. Proužky musí být uloženy tak, aby se k nim nedostala vzdušná vlhkost, která by enzymy mohla hydrolyticky rozkládat [1, 2].

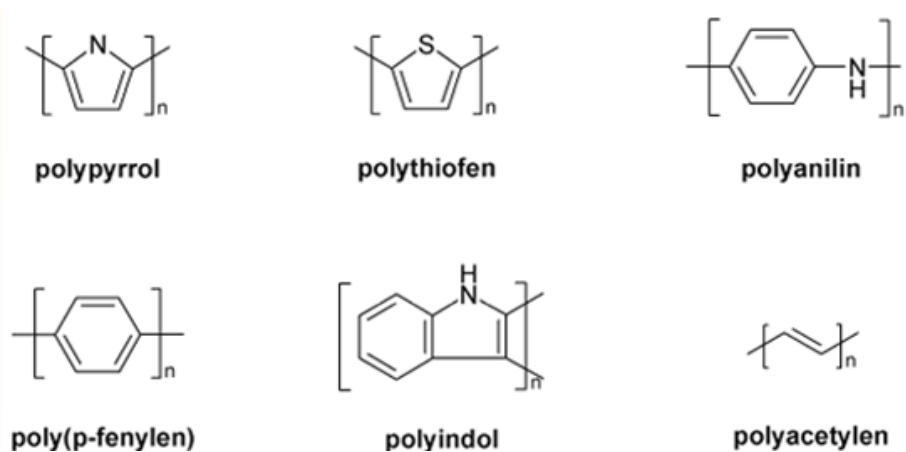
Filmy na bázi PANI mohou být dopovány také anionty, jako jsou hydrogensírany a chloridy. Při $\text{pH} > 5$ omezuje deprotonace smaragdinové formy PANI jeho použití ve fyziologických aplikacích. Použití FET senzorů s PANI omezuje i degradace jeho vodivosti při zvýšeném pH, hystereze a omezená skladovatelnost. Polypyrrol je jako snímací materiál oblíbený díky své dobré vodivosti (10–100 S/cm), teplotní stabilitě a stabilitě při skladování v okolním vzduchu bez významných změn vodivosti po dobu nejméně 2 týdnů. Pro detekci H_2O_2 i glukózy byly

použity i nanotrubice z PPy v kombinaci s glukózooxidázou. Rozsah měřených koncentrací H_2O_2 se pohyboval od 2 do 20 mM. Doba odezvy senzoru byla 5 až 10 s. Výhodami jsou zejména rychlá doba odezvy, žádné významné rušení běžnými rušivými vlivy, jako je kyselina askorbová, kyselina močová a glukóza a dlouhodobá stabilita při skladování (1 měsíc na vzduchu). Tyto faktory činí z tohoto senzoru dobrého kandidáta pro aplikace v potravinářském průmyslu nebo pro kontrolu životního prostředí.

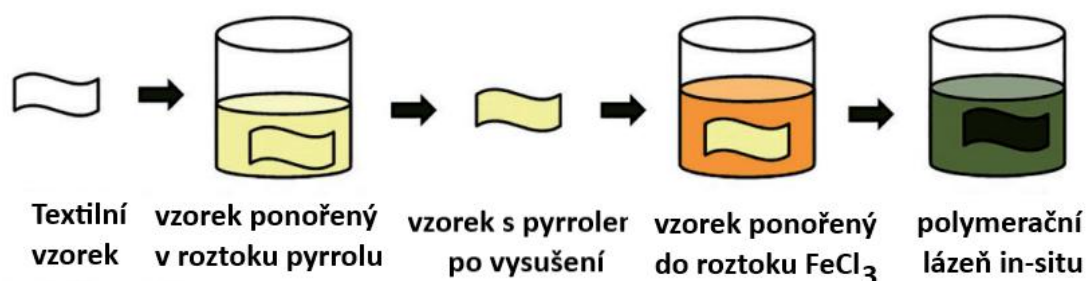
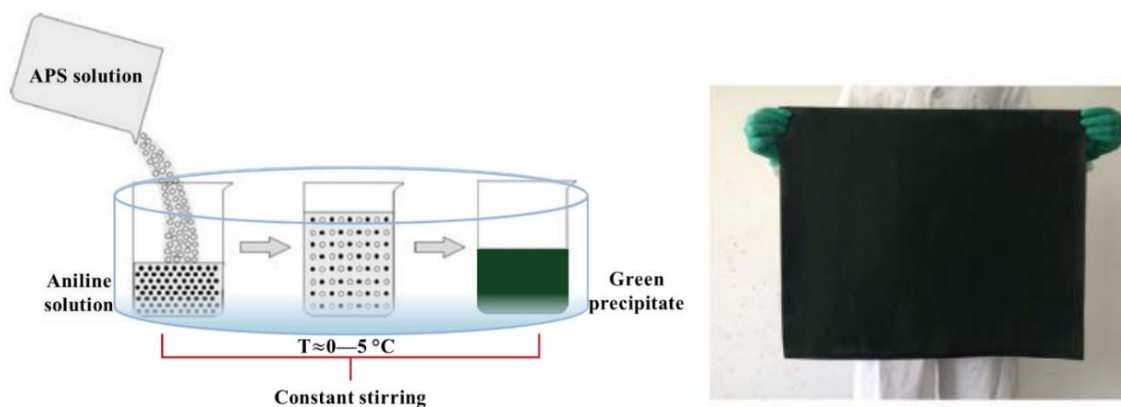
Kladně nabitý polymer PEDOT, tedy poly(3,4-ethyldioxythiofen), se po dopování polystyrensulfonátem (PSS) změní na záporně nabitý. Z PEDOT-PSS se připravují senzory s výbornou stabilitou a širokým rozsahem provozního pH. Vzhledem ke schopnosti PEDOT-PSS tvořit stabilní tenké filmy s dostatečnou vodivostí, je možno připravit organické tenké tranzistory (OTFT), využívající elektrostatické hradlování založené na elektrochemickém dopingů nebo dedopingu vodivého polymerního filmu v roztoku elektrolytu. Tato zařízení využívají nízké provozní napětí, levný substrát a nízké teploty zpracování a mají jednoduché struktury, které je umožňuje snadno vyrábět a integrovat do mikrofluidních čipů. Senzor byl stabilní po dobu 100 dnů a vykazoval pro H_2O_2 široký rozsah měření od 0,001 do 5 mM.

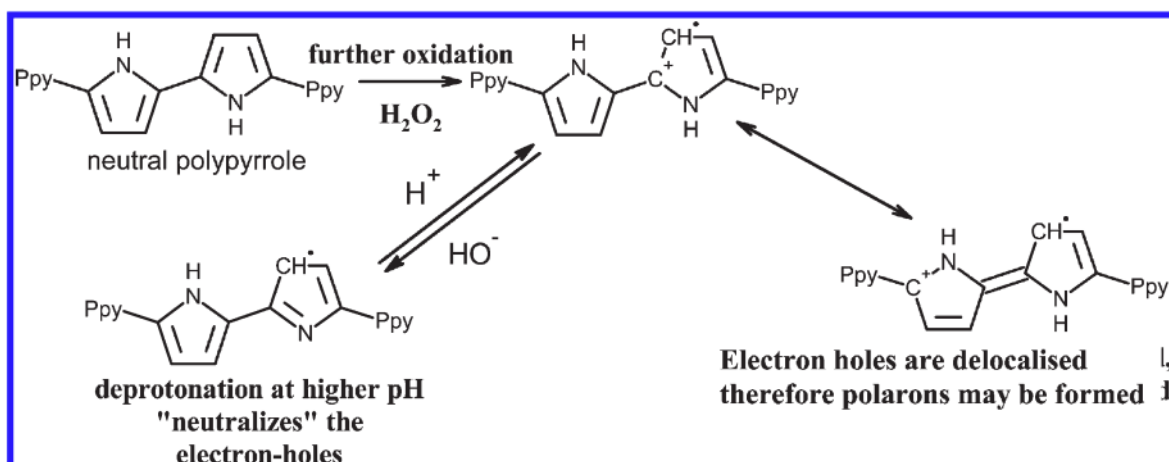
Z výše uvedených důvodů jsme se při našem výzkumu věnovali hlavně planárním vodivostním sensorům se zlatými interdigitálními elektrodami s PANI nebo filmem z PPy, který byl na elektrody nanášen buď oxidační polymerací in-situ nebo dodatečně zatíráním produktu připraveného kapkováním na vhodném substrátu, jak bude vysvětleno dále. Vzhledem k tomu, že při aplikaci detekční vrstvy z PANI byly při expozici plynným H_2O_2 odezvy senzoru mnohem nižší než při použití PPy, věnovali jsme dále pozornost především PPy. Na obrázku 4 jsou uvedeny příklady oxidačních činidel nejčastěji používaných při oxidační polymeraci pyrrolu na PPy. Následující obrázek 5 zase ukazuje oxidační stavy PPy v vznikající při stanovení v kyselém nebo zásaditém prostředí H_2O_2 . Obrázek 6 uvádí možnost přípravy PPy na textilním substrátu oxidační polymerací pyrrolu reakcí s FeCl_3 .

Na obrázku 4 jsou uvedeny příklady vodivých polymerů nejčastěji používaných pro přípravu chemirezistivních detekčních vrstev oxidační polymerací výchozích sloučenin po reakci s oxidačními činidly. Pro naše účely je zajímavá zejména oxidativní polymerace anilínu na textilním substrátu reakcí s chloridem železitým za vzniku PANI a pyrrolu rovněž na textilním substrátu reakcí s persíranem amonným za vzniku PPy popsané na obrázcích 5 a 6. Jejich oxidační stavy jsou pro názornost uvedeny na obrázcích 7 a 8. Na obrázku 9 je u PPy uvedena reakce s různými oxidačními činidly popsány v literatuře. Je zajímavé, že pokud byl pyrrol oxidován těmito činidly samostatně, tak výsledný produkt nanosený na IDT elektrody chemirezistivního senzoru vykazoval při detekci plynného peroxidu vodíku relativně malou citlivost, zatím co při kombinaci persíranu amonného s jodičnanem draselným se citlivost detekce peroxidu výrazně zvýšila. Při kombinaci jodičnanu draselného s jinými oxidačními činidly se však tento efekt neprojevil. stejně jako při kombinaci oxidačních činidel v případě PANI.

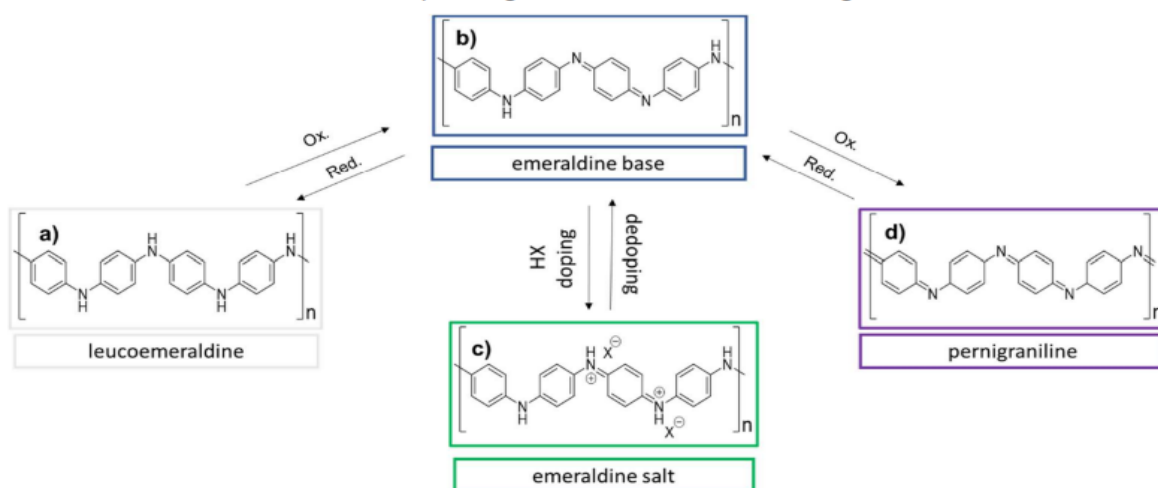


Obrázek 4: Nejčastěji používané vodivé polymery

Obrázek 5: Oxidativní polymerace pyrrolu na textilním substrátu reakcí s FeCl_3 Obrázek 6: Oxidativní polymerace anilinu na textilním substrátu reakcí s $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$

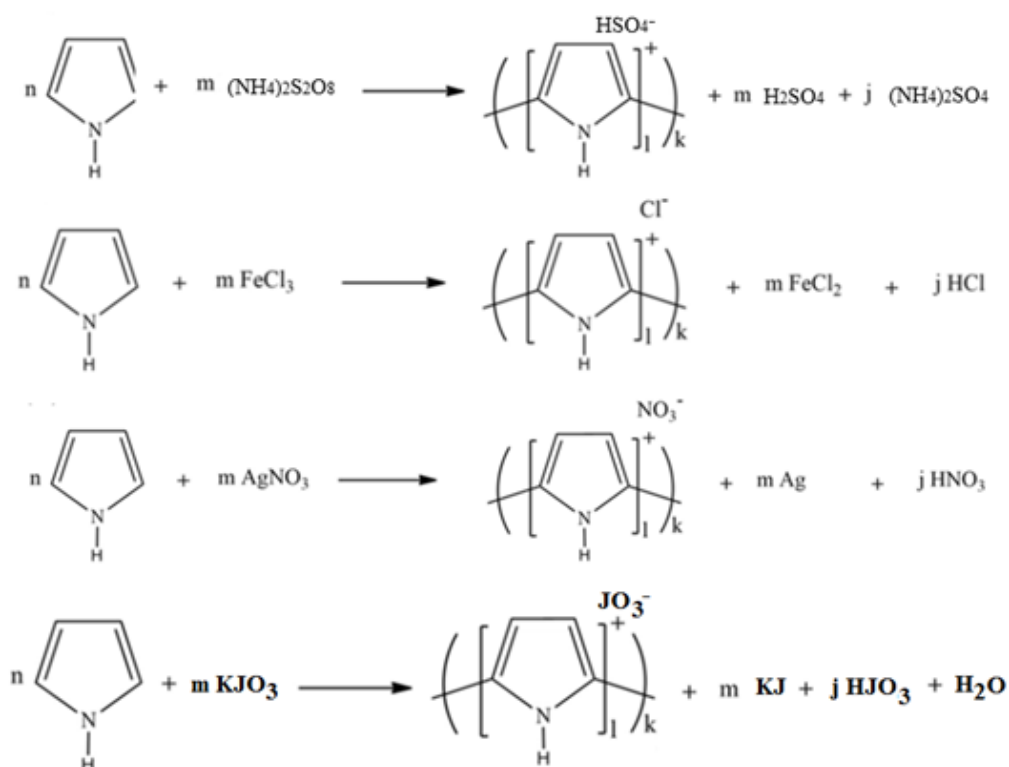


Obrázek 7: Oxidační stavy PPy v přítomnosti H_2O_2 v kyselém nebo zásaditém prostředí



Obrázek 8: Tři různé oxidační stavy PANI, jim odpovídající názvy struktur a mechanismus přechodu elektronů

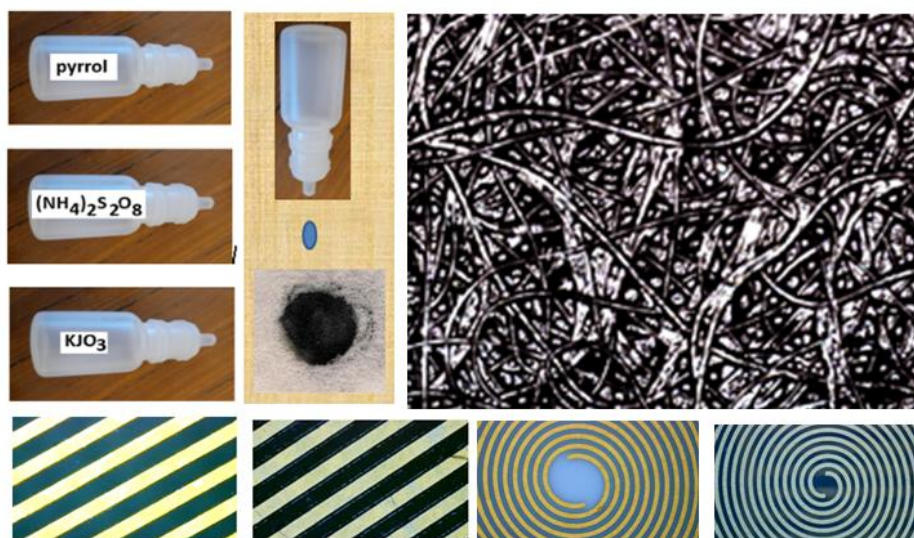
S využitím těchto poznatků byl vyvinut níže popsáný vodivostní senzor, který je schopen reverzibilně měřit koncentraci plynného peroxidu vodíku v reálném čase s poměrně vysokou citlivostí. Výsledné řešení je natolik nové, že navržený postup přípravy senzoru byl podán jako patent, který byl přijat. Odezva senzoru byla měřena pomocí zařízení KONDUKTOTEST, které bylo pro tento účel doplněno přídavným převodníkem umožňujícím jeho využití i pro tento typ senzorů.



Obrázek 9: Příklady oxidační polymerace pyrrolu reakcí s oxidačními činidly za vzniku PPy

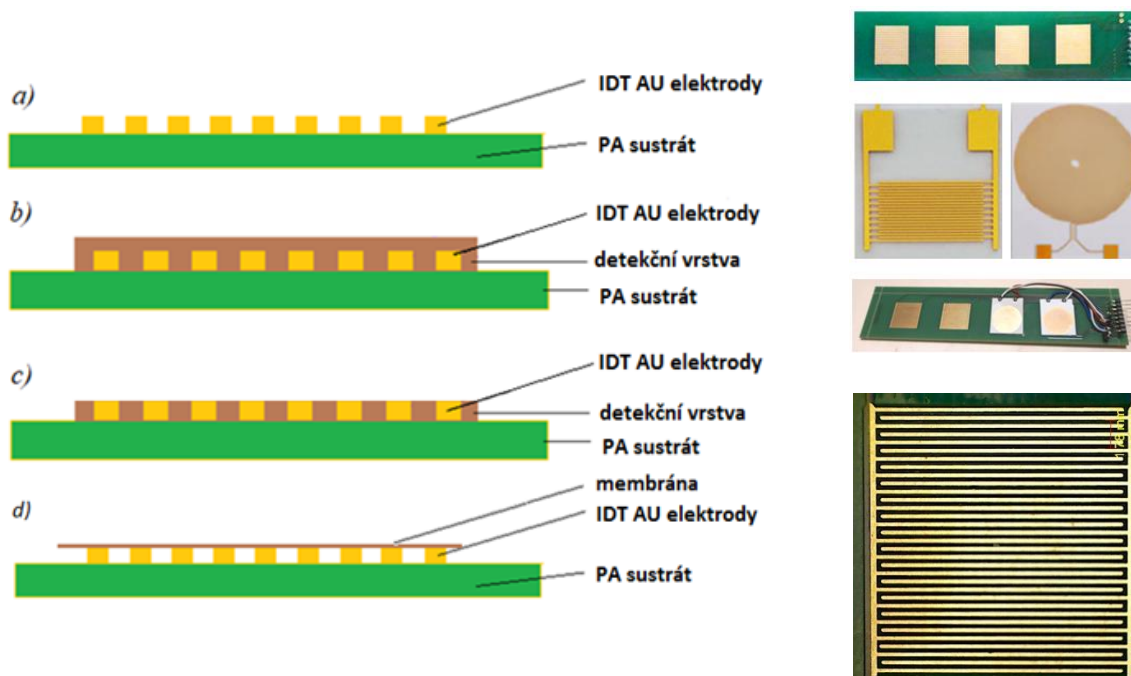
3. PRAKTICKÁ ČÁST

Cílem technického řešení byl vodivostní senzor s interdigitálními elektrodami s detekční vrstvou z vodivého polymeru (zde PPy) vytvořeného postupným nakapáním etanolického roztoku pyrrolu, vodného roztoku persíranu amonného a vodného roztoku jodičnanu draselného na kalibrovanou netkanou textilii z PES bicovláken, který se po zreagování (vytvoření černé skvrny během několika minut) přenesl zátěrem na interdigitální elektrody vodivostního senzoru vlastní konstrukce, nebo obecně na jakýkoliv senzor tohoto typu, který to umožňuje. Obrázek 10 ukazuje jednotlivé reakční roztoky v kapacích lahvičkách, způsob jejich nanášení na textilní substrát, mikrosnímek vytvořeného PPy na netkané kalibrované textilii z PES bico vláken a vzhled interdigitálních elektrod před a po nanesení PPy.



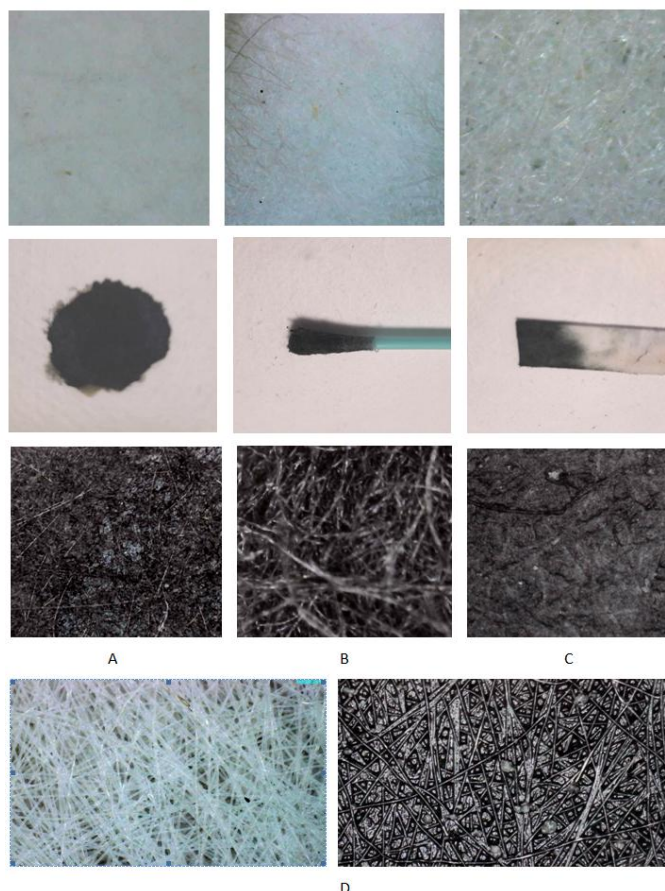
Obrázek 10: Způsob přípravy PPY oxidativní polymerací pyrrolu na textilním substrátu a mikrosnímek vytvořeného PPY. Vzhled interdigitálních elektrod před a po nanesení PPY

Obrázek 11 ukazuje navrhovaný způsob nanášení detekční vrstvy z PPY na interdigitální elektrody planárního chemirezistoru vlastní konstrukce a příklady miniaturních flexibilních senzorů se zlatými interdigitálními elektrodami na polymerním substrátu, které byly pro tento účel zakoupeny.



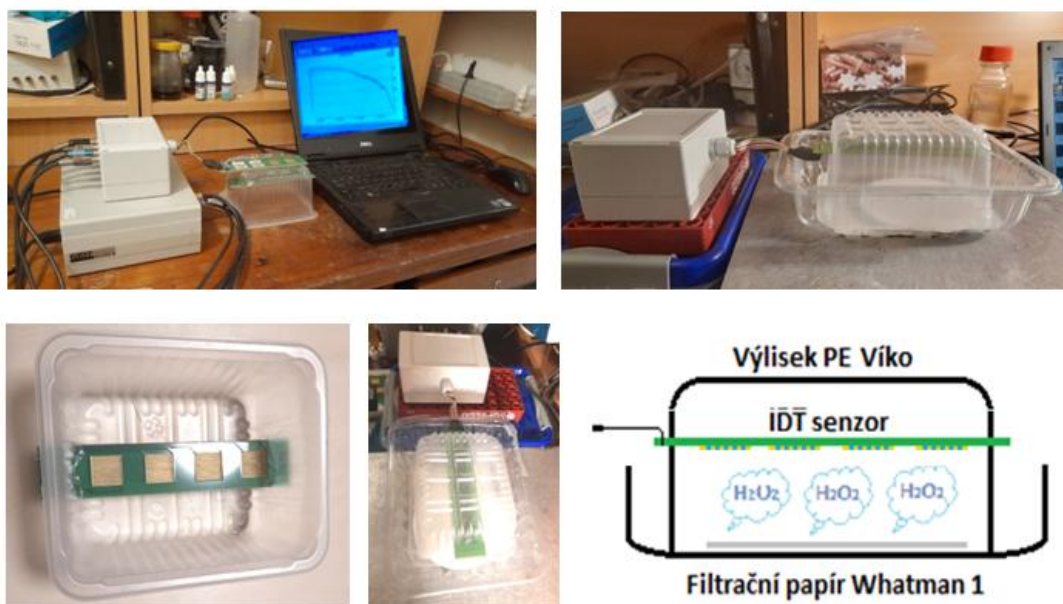
Obrázek 11: Různé možnosti aplikace detekční vrstvy na interdigitální elektrody plynového H_2O_2 senzoru a příklady použitých platforem

Obrázek 12 ukazuje mikrosnímky několika použitých neupravených textilních substrátů a na nich připravený PPy.



Obrázek 12: PPy připravený na různých substrátech A - papír ze skleněných vláken B - PES mikroválkna C - netkaná textilie z PES vláken D - textilie z PTFE nanovláken

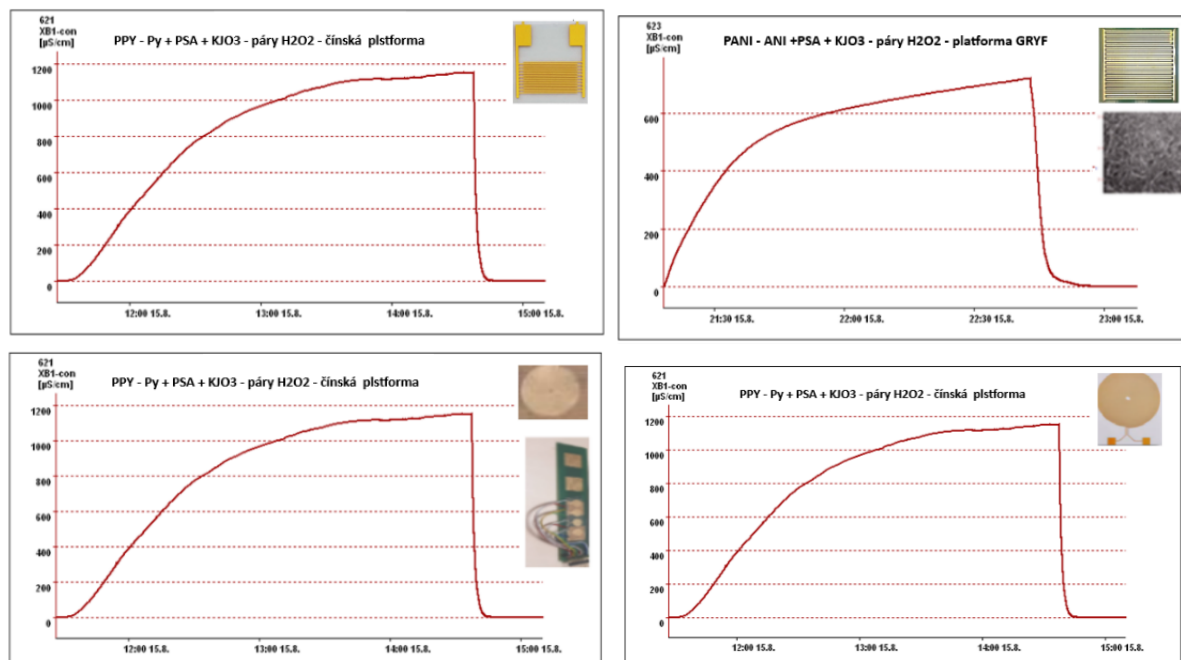
Obrázek 13 ukazuje příklad senzoru H_2O_2 s nanesenou detekční vrstvou a uspořádání vodivostního měření koncentrace plynného peroxidu vodíku na zařízení KONDUKTOTEST.



Obrázek 13: Způsob vodivostního měření koncentrace plynného peroxidu vodíku na zařízení KONDUKTOTEST, a různý způsob nanesení PPy na interdigitální elektrody vodivostního senzoru

4. VÝSLEDKY A DISKUSE

Na obrázku 14 jsou uvedeny příklady odezvy senzoru při expozici plynným H_2O_2 s detekční vrstvou z PPy nanesenou na různé typy IDE platformem.



Obrázek 14: Ukázky výsledků vodivostních měření koncentrace plynného peroxidu vodíku s nově vyvinutým senzorem

5. ZÁVĚR

Dosažené výsledky prezentované v tomto článku prokázaly možnost využití chemirezistivního senzoru s interdigitálními elektrodami a detekční vrstvou na bázi vodivých polymerů pro detekci nízkých koncentrací plynného peroxidu vodíku. Na základě provedené rešerše, experimentálního vývoje a laboratorního ověřování byla navržena jednoduchá a reprodukovatelná metoda přípravy detekční vrstvy z PPy, která vykazovala vyšší citlivost vůči plynnému H_2O_2 než obdobně připravené vrstvy z PANI. Výsledky měření potvrdily, že nově připravený senzor umožňuje průběžné a reverzibilní sledování změn koncentrace peroxidu vodíku v plynné fázi při využití modifikovaného zařízení KONDUKTOTEST.

Významným přínosem navrženého řešení je zejména jednoduchost přípravy detekční vrstvy, využití běžně dostupných chemických látek, nízké výrobní náklady a možnost aplikace vrstvy na různé typy planárních senzorových platforem s interdigitálními elektrodami. Originalitu navrženého postupu potvrzuje také udělení patentu č. 310476 „Způsob přípravy detekční vrstvy vodivostního senzoru pro stanovení plynného peroxidu vodíku“. Vyvinutý senzor představuje perspektivní alternativu ke komerčně dostupným metodám monitorování plynného H_2O_2 , zejména v oblasti laboratorního monitorování, průmyslové bezpečnosti, dekontaminačních technologií a ochrany obyvatelstva.

Další výzkum bude zaměřen na podrobnější charakterizaci metrologických parametrů senzoru, zejména stanovení meze detekce, selektivity vůči interferujícím plynům, dlouhodobé stability detekční vrstvy a opakovatelnosti měření. Současně bude věnována pozornost optimalizaci složení vodivého polymeru a miniaturizaci senzorového systému s cílem rozšířit možnosti jeho praktického využití v přenosných monitorovacích zařízeních.

Použitá literatura

- [1] Vinay Patel, Peter Kruse and Ponnambalam Ravi Selvaganapathy: Solid State Sensors for Hydrogen Peroxide Detection, *Biosensors* 2021, 11, 9. <https://doi.org/10.3390/bios11010009>, www.mdpi.com/journal/biosensors
- [2] Chen, S.; Yuan, R.; Chai, Y.; Hu, F. Electrochemical sensing of hydrogen peroxide using metal nanoparticles: A review. *Microchim. Acta* 2013, 180, 15–32
- [3] Miller, E.W.; Dickinson, B.C.; Chang, C.J. Aquaporin-3 mediates hydrogen peroxide uptake to regulate downstream intracellular signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 15681–15686, doi:10.1073/pnas.1005776107.
- [4] Sies, H. Hydrogen peroxide as a central redox signalling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. *Redox, Biol.* 2017, 11, 613–619.
- [5] Burmistrova, N.A.; Kolontaeva, O.A.; Duerkop, A. New Nanomaterials and Luminescent Optical Sensors for Detection of Hydrogen Peroxide. *Chemosensors* 2015, 3, 253–273.
- [6] Guo, H.; Aleyasin, H.; Dickinson, B.C.; Haskew-Layton, R.E.; Ratan, R.R. Recent advances in hydrogen peroxide imaging for biological applications. *Cell Biosci.* 2014, 4, 1–10, doi:10.1186/2045-3701-4-64.
- [7] Chen, W.; Cai, S.; Ren, Q.Q.; Wen, W.; Zhao, Y.D. Recent advances in electrochemical sensing for hydrogen peroxide: A review. *Analyst* 2012, 137, 49–58.

- [8] Liu, H.; Weng, L.; Yang, C. A review on nanomaterial-based electrochemical sensors for H₂O₂, H₂S and NO inside cells or released by cells. *Microchim. Acta* 2017, 184, 1267–1283.
- [9] Shamkhalichenar, H.; Choi, J.-W. Review—Non-Enzymatic Hydrogen Peroxide Electrochemical Sensors Based on Reduced Graphene Oxide. *J. Electrochem. Soc.* 2020, 167, 037531.
- [10] Lee, S.H.; Kim, K.H.; Seo, S.E.; Kim, M.I.; Park, S.J.; Kwon, O.S. Cytochrome C-decorated graphene field-effect transistor for highly sensitive hydrogen peroxide detection. *J. Ind. Eng. Chem.* 2020, 83, 29–34.
- [11] Zheng, C.; Jin, X.; Li, Y.; Mei, J.; Sun, Y.; Xiao, M.; Zhang, H.; Zhang, Z.; Zhang, G.J. Sensitive Molybdenum Disulfide Based Field Effect Transistor Sensor for Real-time Monitoring of Hydrogen Peroxide. *Sci. Rep.* 2019, 9, 1–9.

CITLIVOSTNÍ MAPA VLIVU VLASTNOSTÍ ODĚVU NA TEPELNOU ZÁTĚŽ ČLOVĚKA V ZÁVISLOSTI NA KLIMATU A INTENZITĚ ČINNOSTI

SENSITIVITY MAP OF CLOTHING PROPERTY EFFECTS ON HUMAN HEAT STRAIN UNDER DIFFERENT CLIMATIC CONDITIONS AND WORKLOADS

Jan Pokorný^{a*}, Barbora Řehák Kopečková^a, Jan Fišer^a

^a Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, Technická 2, 616 69 Brno, Česká republika

* Korespondující autor. e-mail: pokorny.j@fme.vutbr.cz, tel.: +420 541 143 282

Abstrakt

Článek se zabývá hodnocením vlivu vlastností oděvu na tepelnou zátěž člověka pomocí numerických výpočtů. Pro analýzu a tvorbu citlivostních map byl využit model PHS (Predicted Heat Strain) dle normy ISO 7933 a pro porovnání také nástroj PTS (Prediktor tepelného stresu). Tyto metody umožňují hodnotit tepelnou odezvu lidského těla při různých klimatických a pracovních podmínkách s ohledem na vlastnosti oděvu, zejména jeho tepelný odpor a permeabilitu. Cílem práce je analyzovat předpokládanou tepelnou zátěž při různých úrovních pracovní zátěže a klimatických podmínek. V rámci simulací byly měněny parametry prostředí, vlastnosti oděvu, intenzita pracovní činnosti a doba expozice. Výsledky ukazují, že vlastnosti oděvu významně ovlivňují schopnost lidského těla udržovat tepelnou rovnováhu a že získané poznatky mohou přispět k návrhu a optimalizaci funkčních a ochranných oděvů pro specifická pracovní prostředí.

Klíčová slova: ISO 7933, prodyšnost oděvu, tepelný odpor, ochranné oděvy, tepelná zátěž

Abstract

This paper deals with the evaluation of the influence of clothing properties on human heat strain using numerical simulations. The Predicted Heat Strain (PHS) model according to ISO 7933 was used for the analysis and generation of sensitivity maps, and the tool Predictor of Thermal Stress (PTS) was also used for comparison. These methods make it possible to evaluate the human thermal response under various climatic and working conditions while considering clothing properties, particularly thermal insulation and water vapour permeability. The aim of this study is to analyse the predicted heat strain under different levels of physical workload and climatic conditions. The simulations varied environmental parameters, clothing properties, workload intensity, and exposure time. The results show that clothing properties significantly affect the body's ability to maintain thermal equilibrium and that the obtained findings may contribute to the design and optimization of functional and protective clothing for specific working environments.

Key words: ISO 7933, clothing permeability, thermal resistance, protective clothing, heat strain

1. ÚVOD

Lidský organismus disponuje účinným termoregulačním systémem, který umožňuje udržovat tepelnou rovnováhu i při značném rozsahu podmínek okolního prostředí. Při fyzické aktivitě vzniká v organismu významné množství metabolického tepla, které je odváděno především konvekcí, radiací a odpařováním potu. Účinnost těchto mechanismů závisí nejen na teplotě, vlhkosti a proudění vzduchu, ale také na vlastnostech oděvu, zejména na jeho tepelné izolaci a propustnosti pro vodní páru. Hasičské a protichemické ochranné oděvy poskytují nezbytnou ochranu před tepelnými, chemickými a dalšími nebezpečnými vlivy, současně však mohou výrazně omezovat odvod tepla z povrchu těla a tím způsobovat tepelný stres a následnou tepelnou zátěž organismu. Kombinace vysoké metabolické aktivity, zvýšené teploty prostředí, vysoké tepelné izolace oděvu, omezené propustnosti pro vodní páru a dlouhé doby expozice může vést k tomu, že produkce tepla převyší schopnost organismu teplo odvádět. Dochází tak k jeho postupné akumulaci v tkáních a ke zvyšování tělesné teploty. Tento problém je zvláště významný u ochranných oděvů, které současně omezují odpařování potu a tím snižují účinnost evaporativního ochlazování. [1]

Jedním z klíčových parametrů při hodnocení tepelné zátěže je teplota tělesného jádra, kterou nej přesněji reprezentuje rektální teplota. Při překročení tělesné teploty 38 °C lze považovat tepelnou zátěž za zvýšenou. Dalším významným indikátorem fyziologické zátěže je srdeční frekvence, jejíž přiblížení k limitním hodnotám signalizuje rostoucí zatížení organismu a může být spojeno se zvýšenou únavou a poklesem pracovního výkonu. U aklimatizovaných pracovníků lze za určitých podmínek uvažovat referenční hodnotu až 38,5 °C. Další nárůst tělesné teploty, zejména nad 39 °C představuje významné zdravotní riziko a hodnoty nad 40 °C mohou být život ohrožující. V takovém případě je nutné neprodleně přerušit práci, zahájit ochlazování organismu a v případě závažných příznaků vyhledat lékařskou pomoc. Lunerová a kol. [2] provedli fyziologické testy s probandy v ochranných oděvech, při nichž byla sledována mimo jiné rektální teplota a srdeční frekvence. Testy byly ukončeny při dosažení stanovených fyziologických limitů, maximální doby testu nebo na základě subjektivních potíží probanda, jako jsou nevolnost, bolest hlavy či výrazný diskomfort. Tato reálná data získaná při měření osob v ochranných oděvech v klimatické komoře SÚJCHBO v Příbrami poskytují experimentální základ pro posouzení tepelné zátěže a skutečně dosažené doby expozice včetně konečné hodnoty rektální teploty. Jelikož tyto experimenty jsou pracné a nákladné, pro hodnocení tepelné zátěže a stanovení přípustné doby expozice lze využít model Predicted Heat Strain (PHS) podle ISO 7933:2023 [3]. Model umožňuje na základě metabolické aktivity, vlastností oděvu a podmínek prostředí predikovat tepelnou zátěž, zejména rektální teplotu a kumulativní ztrátu vody, a stanovit maximální dobu expozice při splnění zvolených kritérií.

V této práci je tepelná zátěž hodnocena především prostřednictvím vývoje predikované rektální teploty T_{re} a jejího bezpečnostního limitu 38,5 °C. Cílem této práce bylo analyzovat předpokládanou tepelnou zátěž při různých úrovních pracovní zátěže a klimatických podmínkách. V rámci simulací byly měněny parametry prostředí, vlastnosti oděvu, intenzita pracovní činnosti a doba expozice. Byla vytvořena citlivostní mapa pro posouzení tepelného rizika a identifikaci potenciálně nebezpečných podmínek ještě před zahájením práce, při nichž

hrozí nadměrná tepelná zátěž organismu. Pro předběžné posouzení tepelného rizika a identifikaci potenciálně nebezpečných podmínek ještě před zahájením práce. Pro vybrané scénáře byl použit také nástroj Prediktor tepelného stresu (PTS) [2].

2. POUŽITÉ METODY

2.1 PHS model

Model PHS řeší tepelnou bilanci lidského těla jako celku a má určitá omezení a limity použití (viz tab. 1). Jeho hlavní výhodou je jeho relativní jednoduchost a transparentnost, neboť výpočetní postup je součástí normy ISO 7933. Díky implementaci v Pythonu lze navíc snadno definovat vlastní simulační scénáře a systematicky měnit jednotlivé vstupní parametry. Významnou výhodou je také velmi nízká výpočetní náročnost, která umožňuje během několika minut simulovat řadu scénářů. Model PHS je proto vhodný pro rychlé parametrické analýzy a tvorbu citlivostních map tepelné zátěže. Pro výpočty pomocí modelu PHS byla využita Python knihovna pythermalcomfort [4] a byly provedeny dávkové simulace pro vytvoření citlivostní mapy.

Tabulka 1: Doporučený rozsah použitelnosti modelu PHS

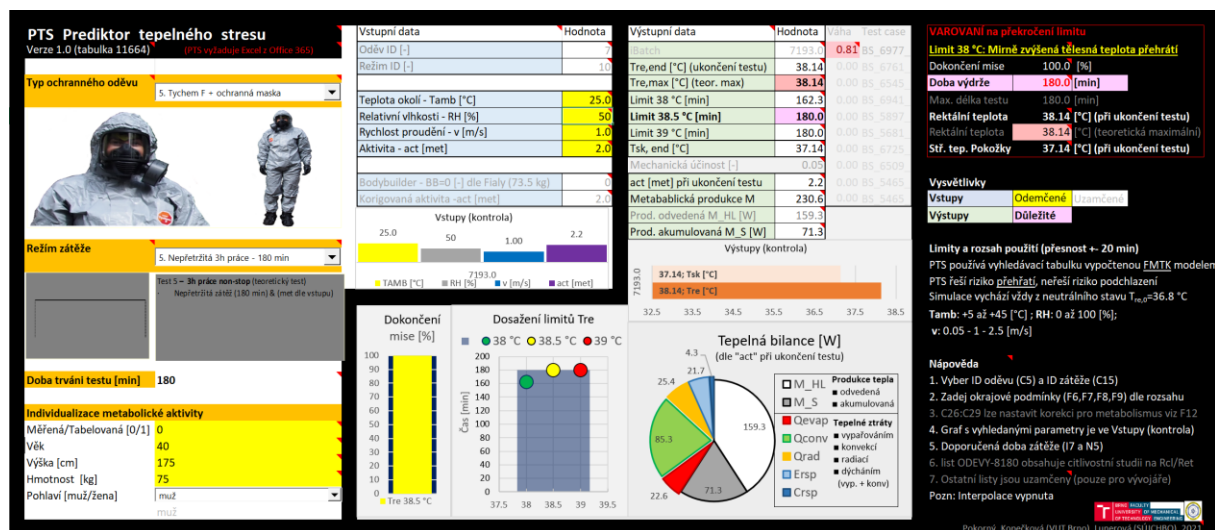
Parametr	Limit
Teplota vzduchu	$t_a = 15\text{--}50\text{ }^{\circ}\text{C}$
Parciální tlak vodní páry	$P_a = 0,5\text{--}4,5\text{ kPa}$
Střední radiační teplota vzduchu	$t_r = 0\text{--}60\text{ }^{\circ}\text{C}$
Rychlost proudění vzduchu	$v = 0\text{--}3\text{ m/s}$
Metabolická aktivita	$M = 56\text{--}250\text{ W/m}^2\text{ (0,96--4,3 met)}$
Vlastní tepelná izolace oděvu	$I_{cl} = 0,1\text{--}1,0\text{ clo}$
Doba simulace	$t = \text{max. } 480\text{ min}$
Permeabilita oděvu	$i_m = 0,1\text{--}0,5$ (v ISO 7933 není uveden rozsah, ale je obecně známa zvýšená chybovost pro neprodyšné oděvy [2, 5])

Poznámka: $1\text{ clo} = 0,155\text{ m}^2\text{K/W}$, $1\text{ met} = 58,15\text{ W/m}^2$.

2.2 Prediktor tepelného stresu

Pro nezávislé ověření výsledků byl použit nástroj PTS, který byl vytvořen v Excelu na základě výsledků modelu FMTK [6, 7]. Zatímco PTS umožňuje rychlý odhad tepelné zátěže pro předdefinované scénáře, FMTK je podrobný vícesegmentový dynamický model, který umožňuje detailněji studovat vliv lokálních charakteristik ochranného oděvu na tepelnou zátěž.

Obrázek 1: Prediktor tepelného stresu – ukázka pro lehký protichemický oděv při 25 °C; 2,2 met



2.3 Základní charakteristiky oděvu

Hodnoty vlastností oděvu uvedené v tab. 2 byly experimentálně stanoveny pomocí tepelného manekýna Newton v klimatické komoře VUT v Brně. Tyto naměřené hodnoty celkového tepelného odporu oděvu a celkového odporu oděvu proti vypařování charakterizují jednotlivé měřené sestavy oděvů a zachycují rozdíly mezi jejich tepelně-izolačními a paropropustnými vlastnostmi. Index propustnosti vlhkosti oděvem byl následně dopočítán podle vztahu:

$$i_m = \frac{R_t}{R_{et} \cdot L_R} \quad (1)$$

R_t – celkový tepelný odpor oděvu [$\text{m}^2\text{K}/\text{W}$],

R_{et} – celkový odpor oděvu proti odpařování vody [$\text{Pa}\cdot\text{m}^2/\text{W}$]

i_m – index propustnosti vlhkosti (permeabilita) oděvu [-]

L_R – Lewisův poměr [K/kPa] uvažován $L_R = 16,5 \text{ K}/\text{kPa} = 0,0165 \text{ K}/\text{Pa}$.

Jako vstup do modelu PHS se zadává i_m a R_{cl} , tj. z naměřených hodnot R_{et} a R_t lze dopočítat R_{cl} , případně R_{ecl} , což jsou charakteristiky vlastního oděvu.

$$R_{cl} = R_t - R_a/f_{cl}, \quad (2)$$

$$R_{ecl} = R_{et} - R_{ea}/f_{cl} \quad (3)$$

R_a [$\text{m}^2\text{K}/\text{W}$] – tepelný odpor mezní vzduchové vrstvy mezi povrchem oděvu/těla a okolním vzduchem. Tato vrstva tvoří část celkového tepelného odporu a při stanovení samotného odporu oděvu je nutné ji od celkového odporu odečíst.

R_{ea} [m²Pa/W] – odpor mezní vzduchové vrstvy proti odpařování vody. Analogicky představuje příspěvek okolní vzduchové vrstvy k celkovému odporu proti přenosu vodní páry. Při stanovení odporu samotného oděvu se odečítá od celkového odporu oděvu proti odpařování vody.

V tomto článku jsou uvažovány hodnoty $R_a = 0,111$ m²K/W a $R_{ea} = 14,2$ m²Pa/W. Jedná se o odpor mezní vzduchové vrstvy a v případě měření vypařovacího odporu také o odpor mezní koncentrační vrstvy vodní páry u povrchu vlhčícího overalu. Tyto hodnoty vycházejí z měření na tepelných manekýnech a jejich hodnota je závislá na typu manekýna a metodice měření pomocí vlhčícího overalu.

f_{cl} [-] je faktor zvětšení povrchu těla oděvem a lze jej změřit pomocí fotografické metody či 3D skenováním, kdy se naskenuje nahý a oblečený manekýn a vypočte se poměr jejich ploch. Hodnotu lze také odhadnout pomocí empirických rovnic dle ISO 7730 [8], ISO 9920 [9] či ISO 7933, ze které pochází tento vztah, který byl použit pro výpočet.

$$f_{cl} = 1 + 1,97 R_{cl} = 1 + 0,31 I_{cl} \quad (4)$$

2.4 Scénáře pro citlivostní mapu

Hlavním výsledkem tohoto článku je citlivostní mapa vlivu vlastností oděvu na tepelnou zátěž člověka. Tato mapa vznikla na základě výpočtu scénářů definovaných v tab. 2 a je uvedena ve výsledcích v tab. 3 a tab. 4. V první části jsou limitní oděvy tj. (lehký velmi prodyšný oděv a nepropustný protichemický oděv), v druhé části jsou dva vybrané hasičské oděvy 1vrstvý a 3vrstvý. Tj. mapa se skládá celkem z 16 2D grafů (4 typy oděvů x 4 doby expozice) a každý z grafů obsahuje závislost rektální (tělesné teploty) na teplotě okolí a aktivitě. Dále jsou v každém grafu vykresleny kontury množství vypocené vody v gramech. Každý graf obsahuje výsledky z 4 050 simulací (90 teplot x 45 hodnot aktivity), tj. celkem se tato citlivostní mapa skládá z 64 800 scénářů. Tato mapa byla vytvořena pouze pro model PHS dle ISO 7730:2023. Pro to, aby bylo možné vykreslit tyto 2D mapy, bylo nutné zafixovat vybrané parametry, které nebyly předmětem zájmu, a také nastavit charakteristiku člověka na průměrného muže o hmotnosti 75 kg s možností doplňování tekutin, ve stoje a aklimatizovaného. Byly fixovány parametry prostředí, jako je relativní rychlost proudění vzduchu a relativní vlhkost, a byly variovány parametry, jako je aktivita, teplota okolí, oděv a doba expozice. Smyslem této mapy není poskytnout zcela přesné výsledky, ale spíše poukázat na závislosti mezi jednotlivými parametry a na to, jaký vliv mají tyto parametry na tepelnou zátěž člověka, aby bylo možné rizika přehřátí včas identifikovat a připravit se na ně (např. zvýšený příjem tekutin, plánování přestávek apod.).

Tabulka 2: Přehledová tabulka simulovaných případů. Aktivita diskretizovaná na 45 hodnot teplota na 90 hodnot, tj. pro jeden oděv a čas 4050 simulací, celkem mapu tvoří 64800 simulací.

Oděvy	Podvlekové prádlo	Protichemický oděv (lehký)	Hasičský oděv (lehký 1 vrstvý)	Hasičský oděv (3 vrstvý)
R_t / R_{cl} [$\text{m}^2\text{K}/\text{W}$] (I_{cl} [clo])	0,141 / 0,030 (0,19 clo)	0,257 / 0,146 (0,94 clo)	0,244 / 0,133 (0,86 clo)	0,344 / 0,233 (1,5 clo)
R_{et} / R_{ecl} [$\text{m}^2\text{Pa}/\text{W}$]	19,2 / 5,0	301,0 / 286,8	39,9 / 25,7	73,2 / 59,0
i_m [-]	0,45	0,05	0,37	0,28
f_{cl} [-]	1,06	1,29	1,26	1,46
Čas t [min]	20/60/180/480	20/60/180/480	20/60/180/480	20/60/180/480
Aktivita M [met]	1 – 7,5	1 – 7,5	1 – 7,5	1 – 7,5
RH [%]	50 %	50 %	50 %	50 %
v (m/s)	1 m/s	1 m/s	1 m/s	1 m/s
$T_a = T_r$ [°C]	15 – 45	15 – 45	15 – 45	15 – 45
q_{sr} [W/m^2]	0	0	0	0
W [W/m^2]	0	0	0	0

Poznámka: Tučně jsou zvýrazněny variované vstupní parametry. Mapa pro jednoduchost zanedbává mechanickou práci W a nezahrnuje přímé sluneční záření q_{sr} . Pro ilustraci jeho možného vlivu lze velmi hrubým odhadem autora uvažovat ekvivalentní zvýšení tepelné expozice přibližně o +5 °C. Ve skutečnosti se vliv slunečního záření projevuje především zvýšením střední radiační teploty a závisí na konkrétních podmínkách prostředí (požáry apod.).

3. VÝSLEDKY

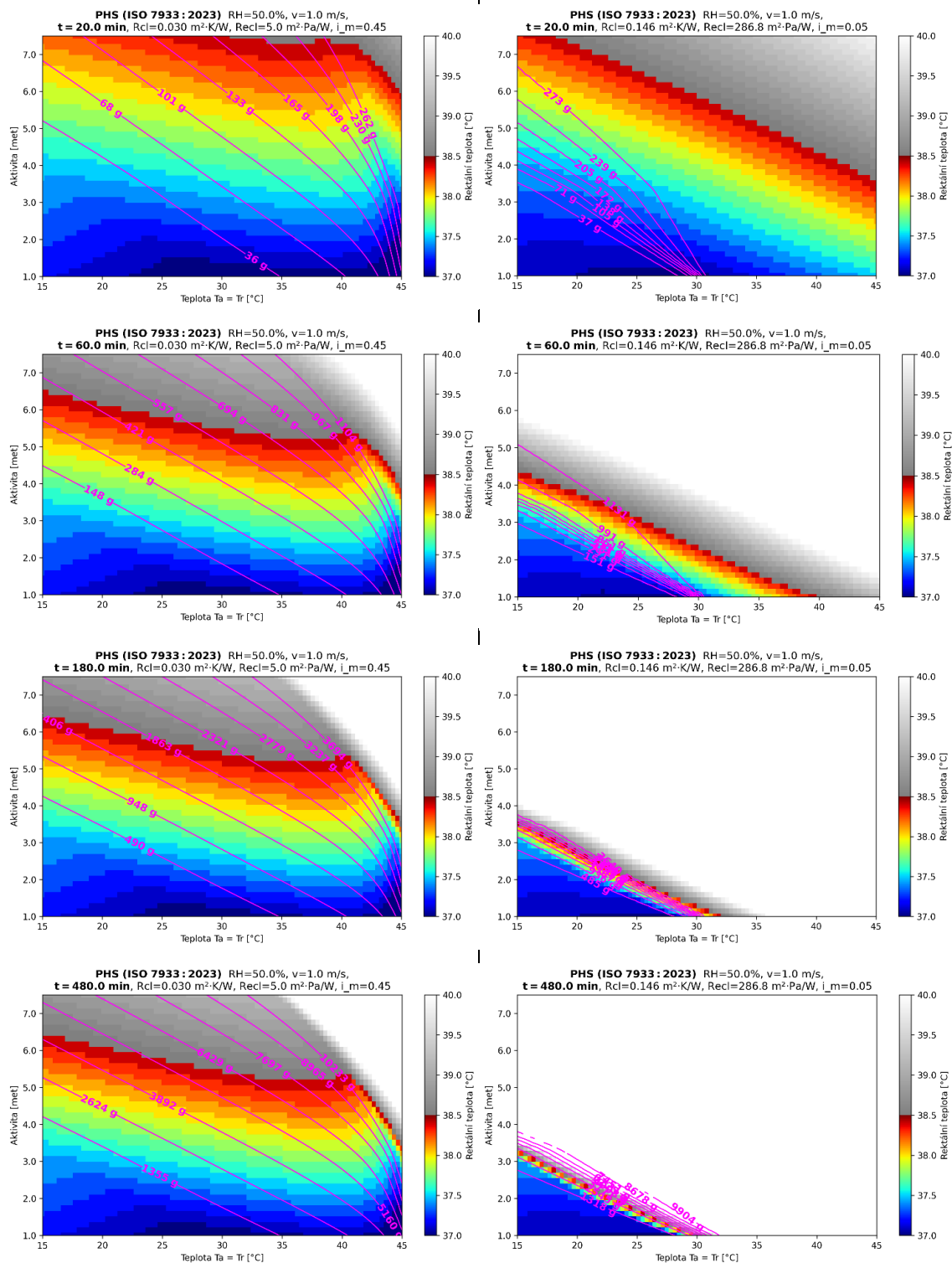
3.1 Citlivostní mapa

Citlivostní mapa vykresluje v závislosti na výše uvedených parametrech výslednou rektální teplotu (barevná škála) a množství potu (fialové kontury). Osa „x“ reprezentuje teplotu okolí v [°C], osa „y“ metabolickou aktivitu v [met] a barevná škála predikovanou rektální teplotu v [°C]. Hodnota 38,5 °C představuje bezpečnostní limit, přičemž nad touto hranicí se škála postupně zesvětluje ze šedé až na bílou při 40 °C, což je teplota, která je již životu nebezpečná.

Tabulka 3: Citlivostní mapa vlivu teploty a aktivity na tělesnou teplotu v čase pro limitní oděvy

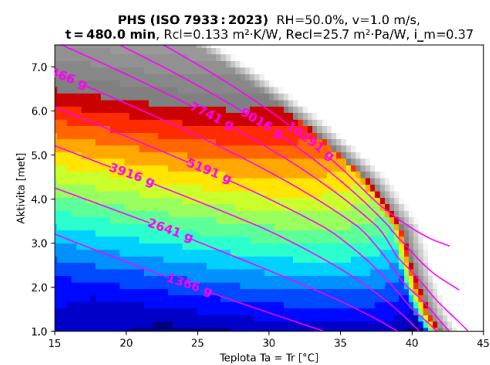
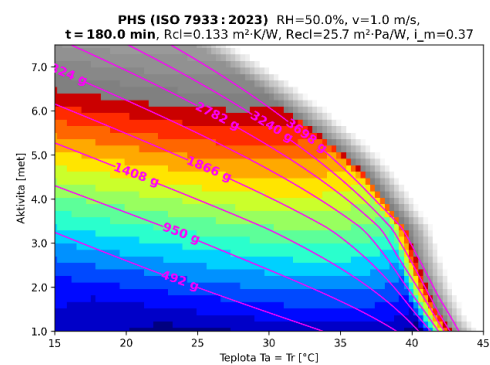
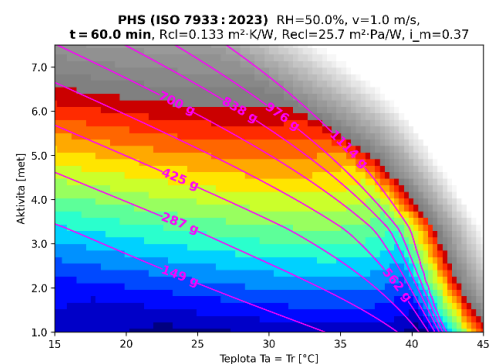
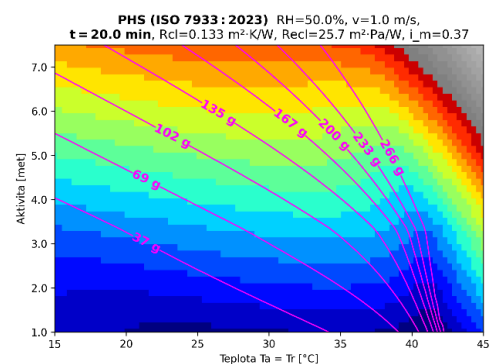
Podvlekové prádlo
(lehký velmi prodyšný oděv)

Lehký protichemický oděv
(lehký nepropustný oděv)

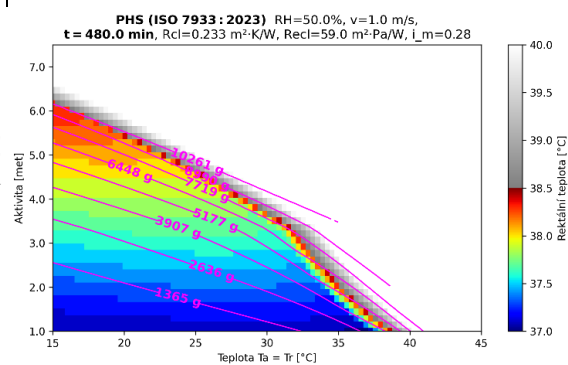
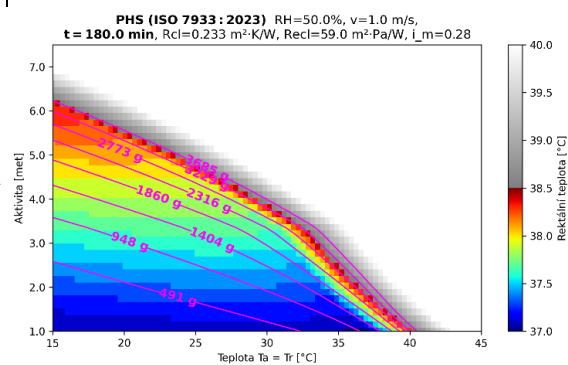
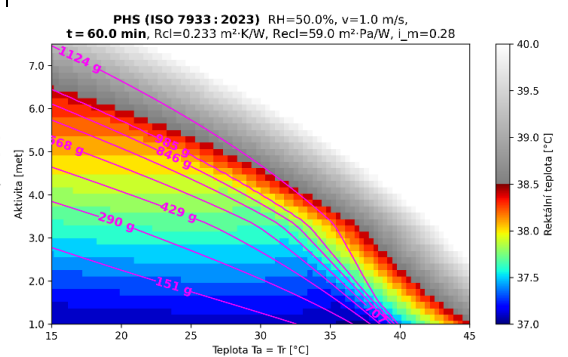
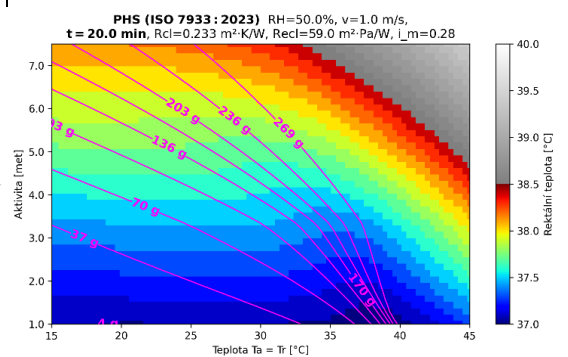


Tabulka 4: Citlivostní mapa vlivu teploty a aktivity na tělesnou teplotu v čase pro hasičské oděvy

Hasičský oděv – 1vrstvý
(lehký oděv)



Hasičský oděv – 3vrstvý
(zásahový oděv)



V této mapě jsou také vykresleny fialové kontury (vrstevnice) znázorňující vyprodukované množství potu v [g]. Mapa je koncipována tak, že tab. 3 porovnává dva limitní typy oděvů: velmi prodyšný a zcela neprodyšný oděv. Tab. 4 pak znázorňuje rozdíl mezi lehčím jednovrstvým hasičským oděvem a třívrstvým zásahovým oděvem. Z výsledků je patrné, že méně prodyšné a více tepelně izolační oděvy zkracují bezpečnou dobu pracovní činnosti, omezují přípustnou intenzitu práce nebo vyžadují práci při nižších teplotách okolí. To se v mapách projevuje zvětšováním bílé oblasti, která představuje podmínky, za nichž již použití daného oděvu není vhodné, případně je nutné počítat s vysokým rizikem přehřátí organismu.

3.2 PHS ukázkové scénáře

Pro přesnější demonstraci výsledků jsou uvedeny v tab. 5 příklady pro pracovní činnosti:

- 3 met – středně lehká až střední práce – chůze pomalým až běžným tempem, lehčí manuální práce, úklid, práce ve stoje s občasným pohybem
- 5 met – těžší manuální práce – rychlejší chůze, práce s lopatou, těžší stavební práce, intenzivnější práce s ručním nářadím

Tabulka 5: Ukázka vlivu oděvu na výslednou tělesnou teplotu pro teploty okolí 25-40 °C a lehkou pracovní činnost 3 met a těžší pracovní činnost 5 met.

Rektální teplota T_{re} v závislosti na (t , t_a , M)	Podvlekové prádlo		Protichemický oděv (lehký)		Hasičský oděv (lehký 1 vrstvý)		Hasičský oděv (3 vrstvý)	
	20 min	180 min	20 min	180 min	20 min	180 min	20 min	180 min
	60 min	480 min	60 min	480 min	60 min	480 min	60 min	480 min
25 °C, 3 met	37,4 37,6	37,6 37,6	37,4 38,4	41,3 X	37,4 37,6	37,6 37,6	37,4 37,6	37,6 37,6
30 °C, 3 met	37,4 37,7	37,7 37,7	37,6 39,1	X X	37,4 37,7	37,7 37,7	37,4 37,6	37,6 37,6
35 °C, 3 met	37,5 37,7	37,7 37,7	37,8 40,0	X X	37,4 37,7	37,7 37,7	37,3 38,0	39,2 40,7
40 °C, 3 met	37,5 37,8	37,8 37,8	38,0 41,0	X X	37,3 37,8	38,5 38,9	37,5 39,0	X X
25 °C, 5 met	37,8 38,2	38,2 38,2	38,0 40,6	X X	37,8 38,1	38,2 38,2	37,7 38,2	39,0 40,0
30 °C, 5 met	37,9 38,3	38,3 38,3	38,2 41,5	X X	37,8 38,2	38,2 38,2	37,7 38,8	41,4 X
35 °C, 5 met	37,9 38,4	38,4 38,4	38,4 X	X X	37,8 38,1	38,2 38,3	37,8 39,7	X X
40 °C, 5 met	37,9 38,4	38,3 38,4	38,7 X	X X	37,7 39,3	41,8 X	38,1 41,1	X X

Jedná se o nepřetržitou pracovní činnost s dobou expozice 20, 60, 180 a 480 min. Tučně je zvýrazněna 60minutová expozice. Červeně jsou označeny hodnoty, při nichž byla překročena

teplota 38,5 °C, a červený křížek označuje teoretické dosažení 42 °C. Ovšem výpočty předpokládají nepřetržitou práci bez možnosti přerušení nebo ochlazení a při teplotách nad 40 °C je nereálné, že člověk bude ještě schopen danou činnost vykonávat.

3.3 PTS ukázkové scénáře

Dále byl použit nástroj PTS pro porovnání výsledků citlivostní mapy modelu PHS a ověření, zda tyto přístupy poskytují kvalitativní shodu. V nástroji PTS lze zadat pouze 4,8 met místo 5 met a dále 2,2 a 3,5 met, a tak hodnota pro 2,9 met byla proto vzata jako průměr těchto hodnot. Tab. 6 obsahuje ručně vyhledané hodnoty pro příslušné oděvy, pouze lehký hasičský oděv není v nástroji PTS k dispozici. Nejedná se o přímé porovnání modelů, ale především o ověření, zda oba přístupy kvalitativně identifikují stejná potenciální rizika přehřátí v závislosti na teplotě prostředí, fyzické aktivitě a vlastnostech oděvu. Z výsledků PTS je patrné, že i pro dané podmínky představuje doba expozice 180 minut u protichemického oděvu již příliš dlouhou dobu nepřetržité pracovní činnosti. PTS umožňuje navíc posoudit vliv pracovních přestávek (10minutových přestávek po každých 20 minutách práce). Jejich vliv se projevuje snížením výsledné rektální teploty ve srovnání s nepřetržitou pracovní činností. Nejedná se však o aktivní chlazení organismu, ale pouze o přerušení pracovní činnosti, během něhož dochází k částečnému poklesu tepelné zátěže.

Tabulka 6: Ukázka hodnot z nástroje PTS 2,9 met a 4,8 MET (vliv přestávky na tepelnou zátěž). A20-P10 znamená 20 minut aktivity a 10 minut přestávky

Rektální teplota T_{re} v závislosti na (t, T_a , M)	Podvlekové prádlo		Protichemický oděv (lehký)		Hasičský oděv (lehký 1 vrstvý)	Hasičský oděv (3 vrstvý)	
	180 min A20-P10	180 min nonstop	180 min A20-P10	180 min nonstop		180 min A20-P10	180 min nonstop
25 °C, 2,9 met	37,4	37,6	38,1	39,0		37,6	38,0
30 °C, 2,9 met	37,5	37,6	38,9	39,8		37,9	38,5
35 °C, 2,9 met	37,6	37,6	39,8	40,7		38,5	39,3
40 °C, 2,9 met	38,1	38,4	40,8	X		39,5	40,4
25 °C, 4,8 met	37,8	38,3	39,7	41,4		38,5	39,8
30 °C, 4,8 met	37,9	38,3	40,5	X		39,1	40,6
35 °C, 4,8 met	37,9	38,1	41,5	X		39,9	41,5
40 °C, 4,8 met	38,7	39,3	X	X		41,0	X

4. DISKUZE

V tab. 1 je uveden rozsah použitelnosti modelu PHS. Některé hodnocené oděvy, zejména protichemický a třívrstvý hasičský oděv, již některé z těchto rozsahů překračují. Výsledky při aktivitě nad 4,3 met, tepelné izolaci nad 1 clo nebo indexu propustnosti vlhkosti oděvem pod 0,1. Výsledky je proto nutné interpretovat s opatrností a považovat je spíše za orientační a mít na vědomí, že pro tyto podmínky je většinou nutné využít podrobnější termofyziologické modely. Přesto výsledky umožňují jistý náhled na rozdíly mezi jednotlivými typy oděvů a na vliv sledovaných parametrů.

Výsledky v tab. 5 potvrzují významný vliv typu oděvu, metabolické aktivity a teploty prostředí na tepelnou zátěž. Při aktivitě 3 met způsobuje podvlekové prádlo a jednovrstvý hasičský oděv relativně nízkou tepelnou zátěž. U lehkého protichemického oděvu se naopak zvýšená T_{re} objevuje již při teplotách kolem 25–30 °C a s délkou expozice rychle narůstá. Třívrstvý hasičský oděv představuje přechod mezi těmito variantami – při 25–30 °C je tepelná zátěž relativně nízká, ale při 35–40 °C se již výrazně projevuje jeho vyšší izolace a omezený odvod tepla. Při zvýšení aktivity na 5 met se rozdíly mezi oděvy dále prohlubují. Vyšší produkce metabolického tepla vede k rychlejšímu růstu T_{re} a ke zkrácení doby, po kterou lze udržet přijatelnou úroveň tepelné zátěže. Nejvýraznější nárůst je patrný u lehkého protichemického a třívrstvého hasičského oděvu. Při vyšších teplotách mohou být dosaženy hodnoty T_{re} kolem 40 °C nebo může výpočet překročit rozsah použitelnosti modelu. Jednovrstvý hasičský oděv vykazuje příznivější průběh, zatímco podvlekové prádlo zůstává z hlediska tepelné zátěže nejprůběhovější.

Vliv teploty prostředí se liší podle vlastností oděvu. U lehkého a dobře prodyšného oděvu vede zvýšení teploty k relativně malému nárůstu T_{re} . Naopak u více izolačních a méně prodyšných ochranných oděvů dochází při růstu teploty k výraznému omezení odvodu metabolického tepla. Tento efekt se dále zesiluje při vyšší fyzické aktivitě, kdy vysoká produkce tepla v kombinaci s omezeným odpařováním potu vede k rychlejší akumulaci tepla v organismu.

Celkově lze oděvy podle tepelné zátěže seřadit od nejprůběhovějšího podvlekového prádla přes jednovrstvý hasičský oděv až po třívrstvý hasičský a lehký protichemický oděv. Výsledky ukazují, že rozhodující není pouze teplota prostředí, ale především její kombinace s metabolickou aktivitou, tepelnou izolací a paropropustností oděvu.

Vysoké hodnoty T_{re} u třívrstvého hasičského oděvu souvisejí zejména s nepřetržitou expozicí po dobu 60 a 180 minut. Při vyšších teplotách je proto důležité zařazovat pracovní přestávky a podle možností využívat také aktivní chlazení. Vyšší ochrana současně omezuje odvod vznikajícího metabolického tepla, což zvyšuje riziko přehřátí.

Množství potu je významné zejména při delší expozici. Model PHS byl nastaven s možností průběžného doplňování tekutin, které umožňuje vyšší produkci potu. Dostatečný příjem tekutin je proto důležitou součástí prevence přehřátí. Samotná hydratace však nemusí být při dlouhodobé práci v náročných podmínkách dostačující, pokud nelze práci přerušit a umožnit organismu ochlazení.

5. ZÁVĚR

V rámci práce byla vytvořena a otestována citlivostní mapa modelu PHS dle ISO 7933, která umožňuje názorně sledovat vliv teploty okolního prostředí, intenzity fyzické aktivity, vlastností oděvu a doby expozice na tepelnou zátěž člověka. Výsledky potvrdily významný vliv tepelně izolačních a paropropustných vlastností oděvu na schopnost organismu odvádět metabolicky produkované teplo a udržovat tepelnou rovnováhu.

Výsledky citlivostní mapy byly dále porovnány s nástrojem Prediktor tepelného stresu (PTS), který využívá předpočítané výsledky složitějšího termofyziologického modelu FMTK. Přestože nešlo o přímé porovnání obou modelů, neboť se drobně lišily ve vstupních parametrech a kvůli omezenému množství dostupných kombinací v nástroji PTS, výsledky vykazovaly kvalitativní shodu v identifikaci potenciálně rizikových podmínek vedoucích k přehřátí organismu. To podporuje využitelnost citlivostních map PHS jako nástroje pro rychlé posouzení vlivu jednotlivých parametrů a identifikaci potenciálně rizikových situací.

Problematika tepelného stresu při práci v horkém prostředí a při používání ochranných oděvů představuje aktuální téma. Význam této problematiky se zvyšuje zejména v letních měsících, kdy v České republice i v zahraničí dochází k častějším zásahům v podmínkách vysokých teplot, například při lesních požárech. Ochranné oděvy sice zvyšují úroveň ochrany zasahujících pracovníků, současně však mohou významně omezovat odvod tepla a vlhkosti z povrchu těla. Z tohoto důvodu je při plánování zásahu nezbytné zohlednit nejen úroveň ochrany oděvu, ale také jeho vliv na tepelnou zátěž organismu, délku expozice, intenzitu fyzické práce a možnosti přestávky či aktivního chlazení.

Vytvořené citlivostní mapy tak mohou sloužit jako podpůrný nástroj pro rychlou orientaci v rizicích tepelného stresu a současně jako podklad pro další vývoj a optimalizaci ochranných oděvů s vhodným kompromisem mezi požadovanou úrovní ochrany a schopností odvádět metabolicky produkované teplo.

Poděkování

Tato práce vznikla za podpory projektu MEBioSys (Strojní inženýrství biologických a bioinspirovaných systémů), reg. č. CZ.02.01.01/00/22_008/0004634, financovaného z Operačního programu Jan Amos Komenský (OP JAK) v rámci výzvy Špičkový výzkum.

Použitá literatura

- [1] ŘEHÁK KOPEČKOVÁ, B.; POKORNÝ, J.; FIŠER, J.; LUNEROVÁ, K.; MAŠÍN, M.; Validation of Fiala-Based Thermo-Physiological Model and Predicted Heat Strain Index for Predicting Rectal Temperature and Sweat Rate in Protective Clothing. Available online: <https://ssrn.com/abstract=6575530> (pre-print citován 6. srpna 2026).
- [2] LUNEROVÁ, K.; ŘEHÁK KOPEČKOVÁ, B.; POKORNÝ, J.; MAŠÍN, M.; KAISER, D.; FIALOVÁ, V.; FIŠER, J. Applicability of Human Thermophysiological Model for Prediction of Thermal Strain in PPE. *Applied Sciences-Basel*, 2023, vol. 13, iss. 12, p. 1-22. ISSN: 2076-3417.

- [3] ISO 7933:2023. *Ergonomie tepelného prostředí – Analytické stanovení a interpretace tepelné zátěže výpočtem předpokládané tepelné zátěže*. Ženeva: Mezinárodní organizace pro normalizaci, 2023.
- [4] TARTARINI, F.; SCHWEIKER, M.; RAJASEKAR, K., et al. pythermalcomfort: A Python package for thermal comfort and environmental design. In *SoftwareX*. 2020, 5(51), 2459.
- [5] KOPEČKOVÁ, B.; POKORNÝ, J.; LUNEROVÁ, K.; FIŠER, J.; JÍCHA, M. Case study comparing Fiala-based thermophysiological model and PHS Index with experimental data to predict heat strain in normal and protective clothing. *Journal of measurements in engineering*, 2021, vol. 9, iss. 1, p. 36-47. ISSN: 2335-2124.
- [6] POKORNÝ J.; FIŠER J.; FOJTLÍN M.; KOPEČKOVÁ B.; TOMA R.; SLABOTÍNSKÝ J.; JÍCHA M.: Verification of Fiala based human thermophysiological model and its application to protective clothing under high metabolic rates. *Building and Environment*, 126, 13–26, 2017
- [7] POKORNÝ J.; KOPEČKOVÁ B.; FIŠER J.; TOMA R.; JÍCHA, M. Využití termofyziologického modelu na určení tepelné zátěže člověka v ochranných oděvech. In: HAZMAT PROTECT 2018: 3. ročník odborné konference o ochraně proti CBRN látkám. Kamenná: SÚJCHBO, v. v. i., 2018, s. 1–10
- [8] ISO 7730:2025. *Ergonomie tepelného prostředí – Analytické stanovení a interpretace tepelného komfortu pomocí výpočtu ukazatelů PMV a PPD a kritérií místního tepelného komfortu*. Ženeva: Mezinárodní organizace pro normalizaci, 2025.
- [9] ISO 9920:2007. *Ergonomie tepelného prostředí – Odhad tepelné izolace oděvního souboru a odporu proti průchodu vodní páry*. Ženeva: Mezinárodní organizace pro normalizaci, 2007.

REAKTIVAČNÍ OTISKY NERVOVĚ PARALYTICKÝCH LÁTEK: KOMPLEXNÍ VIZUALIZACE BAREVNOSTNÍ KINETIKY BIOSENZORU DETEHIT PRO IDENTIFIKACI

REACTIVATION FINGERPRINTS OF NERVE AGENTS: COMPREHENSIVE VISUALIZATION OF THE COLORIMETRIC KINETICS OF THE DETEHIT BIOSENSOR FOR IDENTIFICATION

Dušan Trefilík^{a*}, Monika Hoskovcová^{a*}

^a Ústav ochrany proti zbraním hromadného ničení, UO Brno, Víta Nejedlého, 682 01, Vyškov, ČR

*Korespondující autoři. e-mail: dusan.trefilik@unob.cz, monika.hoskovcova@unob.cz, tel. 973 452 311

Abstrakt

Ellmanova metoda je klasickou metodou pro stanovení přítomnosti inhibitorů acetylcholinesterasy. Je však metodou skupinovou. Využití sloučenin na bázi bispyridiniových aldoximů, využívaných v klinické praxi jako reaktivátorů, umožňuje, díky různé schopnosti reaktivovat enzym-inhibitorové komplexy, povýšit tuto metodu na selektivní. Nutná je následná analýza vzájemných souvislostí neuronovými sítěmi. Zároveň je možné pozorovat i další souvislosti, které jsou dány strukturou vybraných bispyridiniových aldoximů. Použitý model využívá hodnocení trichromatických hodnot získaných reakcí na biosenzoru DeteHit a vizualizaci pomocí Toolboxu Image processing softwarového prostředí Matlab. Tyto vizualizace byly využity pro trénink neuronové sítě, která nabízí možnosti identifikace nervově paralytických látek typu G a V.

Klíčová slova: *acetylcholinesterasa, biochemická metoda, biosensor, methoxim, nervově paralytické látky, neuronové sítě, trimethoxim*

Abstract

The Ellman method is a classic approach for determining the presence of acetylcholinesterase inhibitors; however, it is a group-selective method. The application of bispyridinium aldoxime-based compounds, used in clinical practice as reactivators, allows this method to be enhanced into a selective one due to their varying ability to reactivate enzyme-inhibitor complexes. Subsequent analysis of these interrelationships using neural networks is required. Concurrently, additional correlations dictated by the structure of the selected bispyridinium aldoximes can be observed. The applied model utilizes the evaluation of trichromatic values obtained from the reaction on the DeteHit biosensor and visualised via the Image Processing Toolbox of the MATLAB software environment. These visualisations were used to train a neural network that enables the identification of G- and V-series nerve agents.

Key words: *acetylcholinesterase, biochemical method, biosensor, methoxime, nerve agents, neural networks, trimethoxime*

1. ÚVOD

V minulém ročníku konference Hazmat Protect 2024 jsme odborné veřejnosti představili metodu identifikace nervově paralytických látek (NPL) s využitím neuronových sítí, která je založená na klasické Ellmanově metodě. [1] Je již dobře známo a často zmiňováno, že Ellmanova metoda je klasickou a skupinovou metodou pro stanovení přítomnosti inhibitorů acetylcholinesterasy (AChE), využívanou od šedesátých let minulého století. Využívá enzym AChE a acetylthiocholin jodid jako substrát a 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoovou) kyselinu jako barvivo. [2, 3] Používá se k detekci celé skupiny látek se stejným fyziologickým účinkem, aniž by rozlišovala jednotlivé inhibitory. Mezi nesporné výhody patří její vysoká citlivost a proto je hojně užívaná jak v klinické praxi, tak i ve vojenských prostředcích detekce. [4-7]

Vhodným doplněním reakčního mechanismu o různé modifikátory lze dosáhnout možnosti rozlišit mezi sebou jednotlivé inhibitory ze skupiny NPL. Námi studovanými modifikátory byly například makrobiogenní mono a bivalentní kationty kovů nebo nukleofilní činidla na bázi oximových sloučenin. [4-9] Pokud jsou použity před vznikem tzv. nereaktivovatelné formy fosforylovaného enzymu, dochází podle našich experimentálních poznatků k ovlivnění reakce v závislosti na použitém inhibitoru i modifikátoru. Mechanismy jsou různé. Nejvýraznější změny byly zaznamenány právě u nukleofilních sloučenin, konkrétně oximů na bázi mono- či bispyridiniových aldoxidů. Jejich účinnost při reaktivaci inhibovaného enzymu se liší. Samotná reaktivace závisí na počtu a umístění funkčních skupin a kationických míst, počtu pyridiniových jader či na délce alkylového nebo alkylénového řetězce. [10, 11] V důsledku těchto rozmanitých vlivů neexistuje univerzální reaktivátor, jenž by dokázal účinně působit na enzym inhibovaný libovolnou látkou z řad NPL.

Právě tato rozdílná účinnost činidel vůči specifickému enzym-inhibitorovému komplexu může sloužit jako určující faktor pro identifikaci jednotlivých inhibitorů. Z ohromné škály možných reaktivátorů jsme se zaměřili na bispyridiniový methoxim a jeho pět homologů, lišících se délkou alkylénového řetězce. Výsledky této reakce byly získávány zaznamenáváním barevnosti v časových intervalech, dané trichromatickými hodnotami. Hodnoty byly získávány z jednoduchého biosenzoru pro detekci NPL Detehtu, který výše zmiňovaný reakční mechanismus využívá. Následně proběhlo učení neuronové sítě, která byla schopna data sama generovat v dobré shodě s daty naměřenými i odhadovat (extrapolovat). Byl vytvořen algoritmus, který umožňuje porovnávat výsledky z neurálně vytvořené tzv. spektrální databáze a v našem případě vyhodnotit přítomnost určitého inhibitoru ze skupiny NPL na základě sledování barevnosti změny indikátorové oblasti biosenzoru. Model umožňuje zpracovat a vyhodnotit takové množství dat ve formě velmi jemných barevných změn v čase, které by lidský mozek nemohl efektivně rozlišit. [1] V další fázi bylo konstatováno, že naměřené výsledky slibují možnost korelace mezi strukturálními vlastnostmi reaktivátoru, a výzkum hypoteticky dále rozšířit i tímto směrem s cílem vysvětlit důvody vhodnosti toho či onoho reaktivátoru pro daný typ NPL.

2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Chemikálie

Nervově paralytické látky: sarin (GB) [isopropyl-methylfosfonofluoridát], soman (GD) [(3,3-dimethylbut-2-yl)-methylfosfonofluoridát], cyklosarin (GF) [cyklohexyl-methylfosfonofluoridát], látka R-33 S-[2-(diethylamino)ethyl]-O-isobutylmethylfosfonothioát byly syntetizovány ve VVÚ, s. p. Brno (Česká republika). (GA) ethyl-dimethylfosforamidokyanidát, látka VX (VX) [S-[2-(diisopropylamino)ethyl]-O-ethylmethylfosfonothioát byly připraveny ve VOZ 072, Zemianské Kostolany, Slovenská republika. Čistota látek byla ověřena metodou GC-MS.

A-234 [O-ethyl-N-diethylaminoethylidenamidofluorofosfát]. A-234 [O-ethyl-N-diethylaminoethylidenamidofluorofosfát], látka byla syntetizována ve VVÚ, s. p. Brno, Česká republika. Čistota látek byla ověřena metodou GC-MS.

Reaktivátory AChE: N,N'-monomethylenbis(4-pyridiniumalldoxim) dibromid (MMB-4), [N,N'-dimethylenbis(4-pyridiniumalldoxim) dibromid] (DMB-4); N,N'-trimethylenbis(4-pyridiniumalldoxim) dibromid (TMB-4); N,N'-tetramethylenbis(4-pyridiniumalldoxim) dibromid (TeMB-4); N,N'-pentamethylenbis(4-pyridinium alldoxim) dibromid (PMB-4); N,N'-hexamethylenbis(4-pyridiniumalldoxim) dibromid (HMB-4); bis(4-hydroxyiminomethylpyridinium-1-methyl)-ether dichlorid (obidoxim) byly připraveny firmou Kroupa-Balex, s.r.o., Pardubice, Česká republika.

2.2 Přístroje a pomůcky

Spektrofotometrický přístroj UltraScan XE od firmy HunterLab, Reston, Virginia, USA. Vyhodnocení dat bylo realizováno pomocí tabulkového procesoru Excel. Poloautomatické pipety od firmy BRAND GMBH + CO. KG, Wertheim, Německo.

Textilie s imobilizovanou AChE [EC 3.1.1.7] byla dodána společností ORITEST s r.o., Praha, Česká republika. Jako nosič pro AChE je použita tkanina z čisté přírodní bavlny. Indikační papír s acetylthiocholin jodidem a 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoovou kyselinou (CAS 69-78-3) od stejného dodavatele.

2.3 Pracovní postup

Pro získání experimentálních dat byly používány přířezy detekční tkaniny biosenzoru s imobilizovanou AChE o velikosti 2 cm², které byly ponořeny do roztoku NPL na dobu dvou minut. Poté byla textilie exponována po reakční dobu 10, 15 nebo 20 minut v roztoku reaktivátoru. Po následném opláchnutí byl na textilií, na dobu jedné minuty, přitisknut indikační papír obsahující substrát a chromogenní činidlo. Na spektrofotometru UltraScan XE byla provedena měření změny zabarvení povrchu tkaniny v čase. Každé měření bylo opakováno sedmkrát.

2.4 Využití neuronových sítí pro zpracování dat

Na základě již prováděného výzkumu [12] kdy byla připravena neuronová síť, která byla schopna generovat chromatická data ze zadaných deskriptorů na základě strojového učení na rozsáhlém vzorku naměřených dat, byla neuronová síť obohacena o data z měření látky A-234 a použit stejný algoritmus, který byl schopen data vizualizovat a vyhodnotit, které reaktivátory jsou nejvhodnější pro vyhodnocování barevnostních změn na biosenzoru DETEHIT.

Navržená neuronová síť tak byla obohacena o další data, která tak představují zakotvenou databázi matematických souvislostí, které lze o to spolehlivěji použít pro identifikační proces.

Nutno podotknout, že neuronová síť představuje komplex jednoduchých aritmetických operací a v aplikační rovině není náročná na výpočetní potenciál, který byl naopak potřebný v procesu strojového učení. Představuje tak naladěný aplikační nástroj, kterým lze efektivně vyhodnocovat barevnostní změny, a odhadovat, s jakou pravděpodobností se jedná o tu či onu látku.

3. VÝSLEDKY A DISKUZE

Bylo ověřeno, že neuronová struktura získaná během [12] je snadno modifikovatelná dalším učením a že aditivní strojové učení nemá měřitelný vliv na její schopnosti před tímto procesem učení.

Použité algoritmy po novém učení generovaly shodné grafické výstupy, včetně hodnoty nAUC [12], která se ukazuje být vhodným klíčem k identifikační schopnosti neuronové sítě.

Bylo konstatováno, že naše grafická analýza dat není jen nástrojem pro tvoření dostatečně mohutné neuronové sítě, ale že neuronová síť dokáže efektivně využívat této své mohutnosti k rozlišení výsledků mezi sebou, což je cesta k identifikaci.

4. ZÁVĚR

Navržený systém naučené neuronové sítě byl doposud využit pouze pro vyhodnocování naměřených dat, kdy tato vyhodnocení, postavená na řadě deskriptorů, poskytovala jedno číslo nAUC. Vznikl tak matematický model, jehož součástí je schopnost data vizualizovat.

V další fázi výzkumu bude právě tato schopnost vizualizace využita k tomu, aby konkrétní optický člen sledoval vývoj barevnosti v čase u neznámé látky a na základě zjištěných nAUX v různých koncentracích řady různých reaktivátorů byl schopen tuto látku s určitou pravděpodobností identifikovat.

nAUC nepracuje s konkrétním barevným stupněm, ale pracuje s rychlostí barevné změny v čase. A to jej dělá univerzálním vyhodnocovacím systémem pro jakoukoli optiku s dostatečně silnou rozlišovací schopností barevné změny a nabízí hypotézu o možnosti využití tohoto modelu pro konstrukci jednoduchého vyhodnocovacího zařízení na detekční stripy, jehož mozkiem by byla zmiňovaná neurální síť.

Přidanou hodnotou může být také výstup, který by hledal souvislosti mezi chemickou strukturou reaktivátoru a rychlostí barevné změny biosenzoru u konkrétní NPL. Neurální analýza totiž dokáže potvrdit, zda mezi konkrétními datovými soubory existují korelace a které konkrétní deskriptory na tuto korelaci mají vliv a jaký.

Poděkování

Výzkum byl prováděn v rámci DZRO Ústavu OPZHN Výzkum metod a technologií ochrany před účinky zbraní hromadného ničení a průmyslových nebezpečných látek - PROTECT II.

Použitá literatura

- [1] HOSKOVCOVÁ, M. a D. TREFILÍK. Identifikace nervově paralytických látek s využitím neuronových sítí založená na klasické ellmanově metodě. In: *Sborník článků z 5. ročníku odborné konference Hazmat Protect 2024*. Kamenná: Státní ústav jaderné, chemické a biologické ochrany, v. v. i., 2024, s. 31-42. ISBN 978-80-909301-2-4.
- [2] ELLMAN G. L. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1959, **82**, 70-77
- [3] ELLMAN G. I., COURTNEY K. D., ANDRES V. jr. a R. M. FEATHERSTONE. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*. 1961, **7**, 88-95.
- [4] HOSKOVCOVÁ, M. Analysis of Nerve Agents Through a Modified Method of Cholinesterase Assessment using Artificial Neuronal Networks. *Military Medical Science Letters*. 2017, **86**(3), 96-103. ISSN 0372-7025
- [5] HOSKOVCOVÁ M., P. DUBINA, E. HALÁMEK a Z. KOBLIHA. Identification of Pairs of Organophosphorus Warfare Agents through Cholinesterase Reaction. *Analytical Letters*. 2011, **44**(15), 2521-2529. ISSN 0003-2719. Doi:10.1080/00032719.2011.551860
- [6] HOSKOVCOVÁ M. Diferenciace nervově paralytických bojových chemických látek pomocí biochemické metody. *The Science for Population Protection*. 2018, **10**(1), 101-108. ISSN 1803-635X
- [7] TUŠAROVÁ I. a E. HALÁMEK. Biosenzor pro detekci a rozlišení inhibitorů cholinesteráz, způsob přípravy zóny biosenzoru s imobilizovanou cholinesterázou, způsob detekce cholinesteráz a způsob rozlišení inhibitorů esteráz. Patent CZ 288576, 2001.
- [8] HOSKOVCOVÁ M, J. ŽERAVÍK a D. TREFILÍK. *Vliv Iontů Bivalentních Kovů Na Vazbu OFOL-AChE*. [poster]. Milín: HAZMAT PROTECT 2024. 25.9.2024-26.9.2024.
- [9] TREFILÍK D., M. HOSKOVCOVÁ a J. ŽERAVÍK. *Identifikace Nervově Paralytických Látek S Využitím Neuronových Sítí*. [poster]. Milín: HAZMAT PROTECT 2024. 25.9.2024-26.9.2024.
- [10] MILATOVIĆ D. a M. JOKANOVIĆ. Pyridinium Oximes as Cholinesterase Reactivators in the Treatment of OP Poisoning. In: *Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents*, Gupta R. C., Elsevier, U. K., 2009, 985-996. ISBN 9780123744845.
- [11] WHITELEY C. G. a D. S. NGWENYA. Protein ligand interactions 7 halogenated pyridinium salts as inhibitors of acetylcholinesterase from *Electrophorus electricus*. *Biochemistry and Molecular Biology International*. 1995, **36**(5), 1107-1116.
- [12] HOSKOVCOVÁ, M. a D. TREFILÍK. Vyhodnocení účinnosti reaktivátorů NPL typu „G“, „V“ na základě kinetiky barevných změn biosenzoru detehit a strojového učení s využitím neuronových sítí. In: *Sborník článků odborné konference CBRN PROTECT 2025*. Vyškov: Ústav OPZHN UO, 2025, s. 169-178. ISBN 978-80-7582-583-4.

BIENZYMATICKÝ SYSTÉM PRO STANOVENÍ NERVOVĚ PARALYTICKÝCH LÁTEK

BIENZYMATIC SYSTEM FOR THE DETERMINATION OF NERVE AGENTS

Jiří Žeravík^{a*}, Monika Hoskovcová^a^a Ústav ochrany proti zbraním hromadného ničení, UO Brno, Víta Nejedlého, 682 01, Vyškov, ČR

*Korespondující autoři. e-mail: jiri.zeravik@unob.cz, tel.: +420 973 452 314

Abstrakt

Současné trendy v oblasti biosenzoriky směřují k vývoji multikanálových systémů umožňujících nejen detekci, ale také identifikaci analytů. V této práci je představen bienzymatický systém určený pro stanovení nervově paralytických látek (NPL), využívající karboxylesterázu jako biorekogniční prvek a acetylcholinesterázu jako koncový detekční element. Princip metody je založen na porovnávání odezvy obou kanálů při různých stupních ředění vzorku a následném vyhodnocení získaného profilu odezvy. Jako modelové analyty byly použity látky skupiny G (GB, GD, GF), V (VX) a série A (A-234). Pro zpracování dat byla využita analýza hlavních komponent (PCA), která umožnila rozlišení jednotlivých NPL na základě charakteristického enzymového fingerprintu. Výsledky naznačují, že navržené uspořádání představuje perspektivní přístup k rychlé orientační identifikaci nervově paralytických látek a může být základem pro vývoj jednoduchých přenosných bioanalytických systémů využitelných v terénních podmínkách.

Klíčová slova: nervově paralytické látky, acetylcholinesteráza, karboxylesteráza, biosenzor, PCA

Abstract

Current trends in biosensor development are focused on multichannel systems enabling not only analyte detection but also identification based on characteristic response patterns. This work presents a bienzymatic system for the determination of nerve agents (NAs), employing carboxylesterase as a biorecognition element and acetylcholinesterase as the final detection component. The principle of the method is based on comparing the responses of both channels at different sample dilutions and subsequent evaluation of the resulting response profile. Nerve agents from the G-series (GB, GD, GF), V-series (VX), and A-series (A-234) were used as model analytes. Principal Component Analysis (PCA) was applied for data processing and enabled discrimination among individual nerve agents based on their characteristic enzymatic fingerprints. The obtained results indicate that the proposed system represents a promising approach for the rapid preliminary identification of nerve agents and may serve as a basis for the development of simple portable bioanalytical systems applicable under field conditions.

Key words: nerve agents, acetylcholinesterase, carboxylesterase, biosensor, PCA

1. ÚVOD

Organofosforové sloučeniny (OP) jsou považovány za jednu z nejnebezpečnějších tříd chemických látek působících jako silné inhibitory neuronální aktivity. Nejúčinnější z nich, jako jsou například tabun, sarin (GB), soman (GD), látky typu VX nebo Novičoky (např. A-234), jsou klasifikovány jako bojové chemické látky ze skupiny nervově paralytických látek (NPL) [1]. Kromě výše uvedených látek se méně toxické deriváty OP (např. malathion, parathion, chlorpyrifos) spolu s karbamáty masivně využívají v zemědělství jako pesticidy. Všechny tyto sloučeniny nepůsobí pouze jako inhibitory cholinesteráz, ale ovlivňují širší spektrum serinových hydroláz [2].

Základním biochemickým principem detekce OP je inhibice cholinesteráz, které k těmto látkám vykazují nejvyšší citlivost ve srovnání s ostatními serinovými hydrolázami (karboxylesterázami, lipázami či proteázami) [2,3]. Klasické jednokanálové bioanalytické systémy však poskytují pouze základní informaci o přítomnosti inhibitoru ve vzorku. Slouží tedy jako semikvantitativní a semiselektivní screening pro výběr relevantních vzorků před konfirmační analýzou pomocí vysoce sofistikovaných přístrojových metod, jako jsou GC-MS či LC-MS [4]. Hlavními výhodami cholinesterázových biosenzorů zůstávají jejich vysoká citlivost, nízká cena a jednoduchá terénní aplikace. Současný výzkum v této oblasti se zaměřuje jak na zvyšování citlivosti enzymatického prvku (využitím rekombinantních mutantů či nativních enzymů z odlišných organismů) [5,6,7], tak na vývoj pokročilých optických a elektrochemických detekčních systémů [8].

Ke zvýšení diskriminační schopnosti se stále častěji využívají multikanálová senzorická pole (sensor arrays). Dosud publikované systémy spoléhají především na paralelní použití enzymů s různou citlivostí – např. kombinace nativních a mutantních forem acetylcholinesterázy (*Drosophila melanogaster*, *Nippostrongylus brasiliensis*) [5,6], směsi cholinesteráz z různých druhů (*Phaseolus multiflorus*, *Electrophorus electricus*, *Musca domestica*) [7], případně na kombinaci hydroláz a oxidoreduktáz (křenová peroxidáza, tyrosináza) [9]. Získaná komplexní data z těchto senzorových polí jsou následně vyhodnocována pomocí pokročilých statistických metod nebo umělých neuronových sítí k odlišení jednotlivých analytů [5,7,9].

Všechny dosavadní metodiky pracují pouze s jednostupňovým působením analytu na biorekogniční prvek. Předložená práce přináší koncepčně nový přístup. Vytváří dvoukanálový diferenční systém, kde je vysoce citlivá acetylcholinesteráza (AChE) stavěna do role koncové detekční jednotky, před kterou je předřazen enzymatický prvek, karboxylesteráza (CE). Princip metody spočívá v paralelním sledování odezvy vzorku ve dvou kanálech. První kanál kombinuje inertní proteinovou matici s AChE (měření čisté inhibice), zatímco druhý kanál využívá předřazenou CE s AChE. Měření založené na dvoustupňové preinkubaci a následném stanovení zbytkové aktivity AChE Ellmanovou metodou [10] poskytuje charakteristické chemometrické profily (fingerprinty), které v kombinaci s analýzou hlavních komponent (PCA) umožňují spolehlivou a rychlou identifikaci jednotlivých zástupců NPL.

2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Chemikálie

Nervově paralytické látky: sarin (GB) [isopropyl-methylfosfonofluoridát], soman (GD) [(3,3-dimethylbut-2-yl)-methylfosfonofluoridát], cyklosarin (GF) [cyklohexyl-methylfosfonofluoridát], VX [O-ethyl-S-(2-diisopropylaminoethyl)-methylfosfonothioát], A-234 [(1E)-N-[bis(diethylamino)fluorofosforyl]-N'-fluor-2,2,2-trifluoracetamidin]. Čistota látek byla ověřena metodou GC-MS. Látky byly syntetizovány ve VVÚ, s. p. Brno. Zásobní roztoky o definovaných koncentracích byly připravovány rozpuštěním v dimethylsulfoxidu (DMSO).

Ostatní chemikálie: 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoová kyselina (DTNB), acetylthiocholin jodid (ATCh), 4-nitrofenylbutyrát (4-NPBut), tris(hydroxymethyl)aminomethan (Tris), hovězí sérový albumin (BSA), acetylcholinesteráza z *Electrophorus electricus* (AChE) [EC 3.1.1.7] a karboxylesteráza z jater *Sus scrofa* (CE) [EC 3.1.1.1] byly zakoupeny od společnosti Merck KGaK (Darmstadt, Německo). Kyselina chlorovodíková (HCl) byla dodána společností PENTA s.r.o. (Praha, Česká republika).

2.2 Přístroje a pomůcky

Multidetekční microplate reader Synergy H1M s duálním reagenčním injektorem (BioTek Instruments, Winoosky, Vermont, USA). Poloautomatické pipety od firmy BRAND GMBH + CO. KG (Wertheim, Německo). Třepačka IKA MS 3 basic (IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Německo). Stolní pH metr HI2221 (Hanna Instruments Czech s.r.o., Praha, ČR).

Mikrotitrační dělitelné destičky (stripy 1 x 8, Greiner Bio-One) dodané firmou Merck KGaK (Darmstadt, Německo).

2.3 Stanovení aktivity enzymů

Stanovení aktivity acetylcholinesterázy (AChE) vycházelo z modifikované Ellmanovy kolorimetrické metody. Míra enzymatické aktivity byla odvozena z rychlosti tvorby žlutě zbarveného 5-merkpto-2-nitrobenzoátu (TNB), který vzniká reakcí thiocholinu (produktu hydrolýzy ATCh) s DTNB v zásaditém prostředí (Tris/HCl pufr pH 7,5).

Aktivita karboxylesterázy (CE) byla stanovována enzymatickou hydrolýzou 4-NPBut za uvolnění 4-nitrofenolu, jehož rozpad a přechod do enolové formy byl monitorován při pH 7,5 (Tris/HCl pufr pH 7,5). Vliv NPL na oba enzymatické systémy byl vyhodnocován měřením poklesu zbytkové aktivity na Microplate readeru Synergy H1M.

Stanovení aktivity enzymu pomocí Synergy H1M

Funkčnost a katalytická aktivita AChE byla ověřována pro každou novou šarži enzymu. Do jamek mikrotitrační destičky byly dávkovány roztoky AChE v 0,1 M Tris-HCl pufru (pH 7,5) tak, aby finální aktivita v jamce odpovídala rozmezí 0,1; 0,2; 0,5 a 1,0 U (vztaženo k deklarované aktivitě výrobce). Následně byla pomocí automatického injektoru do jamek nadávkována

reagenční směs DTNB a ATCh v Tris-HCl pufru (pH 7,5; finální koncentrace 0,6 mM DTNB a 0,4 mM ATCh). Po krátkém intenzivním protřepání byla měřena časová závislost změny absorbance při $\lambda = 410$ nm po dobu 2 minut v intervalech 20 sekund. Naměřené kinetické křivky byly zpracovány lineární regresí, přičemž směrnice přímky odpovídala počáteční rychlosti enzymatické reakce (DA_{420} / min).

Pro následující inhibiční experimenty byla zvolena taková pracovní koncentrace AChE, která poskytovala počáteční rychlost hydrolýzy v lineární oblasti v rozmezí 150 až 300 DA_{410} / min (odpovídající aktivitě přibližně 0,2 U / jamku).

Analogický postup byl aplikován pro kontrolu aktivity CE. Enzym byl dávkován v Tris-HCl pufru (pH 7,5) a reakce byla zahájena injektáží substrátu 4-NPBut rozpuštěného v DMSO. Nárůst absorbance uvolněného 4-nitrofenolátu byl monitorován kineticky při vlnové délce $\lambda = 405$ nm.

Měření aktivity enzymu po inkubaci s inhibitorem

Zásobní roztoky jednotlivých NPL byly připraveny rozpuštěním přesně definovaného objemu syntetizované látky (20 μL) v 980 μL DMSO. Přesná koncentrace primárního zásobního roztoku byla vypočtena z přesné navážky/objemu dané NPL s korekcí na čistotu látky stanovenou metodou GC-MS. Z tohoto základního roztoku byla v DMSO připravena desetinásobná sériová ředící řada (1 $\times$, 10 $\times$, 100 $\times$ až 10¹⁰ $\times$ ředěný roztok). Na základě předběžných orientačních testů bylo pro každou NPL vybráno 7 reprezentativních koncentračních kroků pokrývajících celý rozsah inhibiční křivky (od 0 % do 100 % inhibice).

Měření kalibračních závislostí probíhalo na dělených 96-jamkových mikrotitračních destičkách (byly použity 4 stripy). Do jamek byl nejprve dávkován roztok inhibitoru v DMSO v příslušném ředění. Následně byl do jamek přidán roztok enzymu (AChE nebo CE) v Tris-HCl pufru pH 7,5. Celkový obsah DMSO v reakční směsi byl udržován na konstantní hodnotě 10 % (v/v). Slepý pokus (blank) obsahoval Tris-HCl pufr s 10 % podílem DMSO bez přítomnosti NPL.

Pro studium časového vývoje inhibičního účinku byla směs enzymu s inhibitorem inkubována po dobu 5, 10 a 20 minut při teplotě 25 °C. Po uplynutí stanovené doby inkubace byla reakce zahájena automatickou injektáží reagenční směsi. Pro AChE byla dávkována směs ATCh (finální koncentrace 0,4 mM) a DTNB (finální koncentrace 0,6 mM) v Tris-HCl pufru pH 7,5. Zbytková aktivita byla monitorována kineticky měřením absorbance při $\lambda = 410$ nm po dobu 2 minut. Pro CE byl použit substrát 4-NPBut (finální koncentrace 1,0 mM v Tris-HCl pufru, pH 7,5). Zbytková aktivita byla měřena kineticky při $\lambda = 405$ nm po dobu 2 minut.

Všechna měření byla prováděna v tetraplikátech ($n = 4$). Sběr kinetických dat probíhal v obslužném softwaru Gen5 (BioTek Instruments, USA). Naměřené hodnoty směrnice absorpčních křivek DA / min byly přepočteny na procenta zbytkové aktivity a matematicky vyhodnoceny nelineární regresí pro získání parametrů IC_{50} .

Vyhodnocení naměřených dat

Získané kinetické hodnoty počátečních rychlostí enzymatické reakce (DA / min) byly přepočteny na procenta zbytkové aktivity enzymu vůči neinhibované kontrole (blanku). Závislost zbytkové aktivity enzymu na logaritmu koncentrace inhibitoru ($\log_{10} c$) byla matematicky vyhodnocena

pomocí nelineární regrese. Pro proložení naměřených dat byla použita čtyřparametrová logistická rovnice (sigmoida) $Y = [(A1 - A2) / (1 + (X / IC_{50})^p)] + A2$, kde hodnoty A1 a A2 odpovídají horní a dolní asymptotě, hodnota IC_{50} představuje koncentraci inhibitoru, při které dochází k 50% poklesu aktivity enzymu. Hodnota p představuje směrnici přímky v inflexním bodě (odpovídá hodnotě IC_{50}).

Pro vzájemné porovnání dvoukanálové odezvy byl zaveden poměrný parametr $R(IC_{50})$ definovaný jako $R(IC_{50}) = (IC_{50}(CE + AChE) / IC_{50}(BSA + AChE))$. Tento parametr vyjadřuje míru stechiometrického zachytu dané NPL na CE a slouží jako základní kvantitativní ukazatel pro hodnocení diskriminační schopnosti diferenčního systému. Výpočty nelineární regrese byly realizovány v softwaru OriginPro.

Dvoukanálové diferenční měření NPL (BSA/AChE vs. CE/AChE)

Dvoukanálová analýza NPL probíhala v paralelním uspořádání na 96-jamkových mikrotitračních destičkách. Vzorky NPL z připravených sériových ředění v DMSO byly dávkovány do jamek tak, aby finální ředění vzorku v reakční směsi v jamce (při celkovém objemu reakční směsi) odpovídalo řadě 20×, 50×, 100×, 200×, 500×, 1000× a 2000×. Finální podíl DMSO v reakční směsi byl u všech jamek udržován na konstantní úrovni (10 % v / v). Všechna měření byla prováděna v duplikátech pro každý kanál (celkově $n = 4$ pro daný koncentrační bod).

Vlastní stanovení probíhalo ve dvou fázích. První inkubační stupeň (20 min): *Kanál 1* (kontrolní matrice, stripy 1 a 2), kde vzorek NPL byl smíchán s roztokem BSA v Tris-HCl pufru, pH 7,5 a inkubován po dobu 20 minut pro posouzení vlivu inertní bílkovinné matrice. *Kanál 2* (diferenční kanál, stripy 3 a 4) obsahoval vzorek NPL smícháný s roztokem CE v Tris-HCl pufru, pH 7,5 o finální aktivitě 2,0 U / jamku. Vzorek byl inkubován po dobu 20 minut pro zajištění stechiometrického zachytu reaktivního inhibitoru. V rámci druhého inkubačního stupně byl do obou kanálů následně nadávkován roztok acetylcholinesterázy (AChE) o finální aktivitě 0,2 U / jamku a směs byla inkubována po dobu 5 minut pro stanovení nezreagovaného podílu inhibitoru.

Detekce zbylé enzymové aktivity spočívala v automatickém nadávkování reagenční směsi ATCh (finální koncentrace 0,4 mM) a DTNB (finální koncentrace 0,6 mM) v Tris-HCl pufru pH 7,5. Kolorimetrické stanovení zbytkové aktivity AChE bylo prováděno kineticky měřením absorbance při $\lambda = 410$ nm po dobu 2 minut při 25 °C. Naměřené rychlosti reakce (DA_{410} / min) v obou kanálech sloužily k výpočtu procenta zbytkové aktivity a k sestavení diferenčních enzymových profilů (*fingerprintů*) pro následnou chemometrickou analýzu (PCA).

3. VÝSLEDKY A DISKUZE

Interakce nervově paralytických látek (NPL) s cholinesterázami jsou obecně považovány za skupinové reakce, které samy o sobě poskytují jen omezené možnosti vzájemného rozlišení jednotlivých analytů. Selektivnější diferenciace je obvykle založena na využití reaktivátorů [11] nebo iontů alkalických kovů a kovů alkalických zemin [12]. Princip těchto postupů spočívá v přidavku uvedených činidel až po inkubaci cholinesterázy s inhibitorem, což umožňuje spolehlivé odlišení látek skupin G a V [11]. V oblasti detekce organofosforových pesticidů se

v současnosti prosazují přístupy využívající paralelní měření s několika enzymatickými systémy, z nichž každý vykazuje odlišný profil citlivosti vůči sledovaným analytům. Takto získaná data lze následně zpracovat pomocí chemometrických metod a využít k rozlišení jednotlivých pesticidních látek [7,9]. Alternativní přístup představuje dvoukanálové uspořádání navržené v této práci. Měření je založeno na dvoustupňové inkubaci. V prvním kroku probíhá selektivní interakce analytu s biorekogničním prvkem v diferenčním kanálu, zatímco druhý krok je zaměřen na stanovení zbytkového množství volné NPL, které nebylo spotřebováno během předchozí inkubace. Tento způsob uspořádání umožňuje vytvořit charakteristickou diferenční odezvu využitelnou pro následnou identifikaci jednotlivých nervově paralytických látek.

3.1. Stanovení IC_{50} pro NPL u AChE a CE: časová závislost na inkubaci

Při hodnocení inhibiční účinnosti NPL vůči esterázám je zásadním parametrem doba inkubace enzymu s inhibitorem. Vzhledem k mechanismu, na čase závislé, ireverzibilní inhibice dochází s prodlužujícím se časem reakce k poklesu hodnot IC_{50} . Pro srovnání základní citlivosti AChE a CE byla zvolena sada pěti vybraných NPL zahrnující jak klasické látky řady G a V (GB, GD, GF, VX), tak zástupce skupiny Novičok (A-234).

Vliv doby inkubace na inhibiční účinek byl sledován v časových intervalech 5, 10 a 20 minut. Naměřená data (*Tabulka 1*) potvrzují tendenci poklesu hodnot IC_{50} v závislosti na délce inkubace. V rámci srovnávacích měření byl zaznamenán velký rozdíl v citlivosti mezi AChE a CE, ve všech časových bodech vykazovala AChE přibližně o řád vyšší citlivost (nižší hodnoty IC_{50}) než CE. Nejvyšší inhibiční účinek vůči AChE byl zaznamenán u látek A-234 a GF, zatímco u CE byla reakce obecně pomalejší, což odpovídá známým strukturálním rozdílům v aktivním místě obou enzymů (zejména odlišné geometrii acylfóbní kapsy) [13].

Tabulka 1: Srovnání hodnot IC_{50} [nM] enzymů AChE a CE při inkubaci inhibitoru s enzymem po dobu 5, 10 a 20 min.

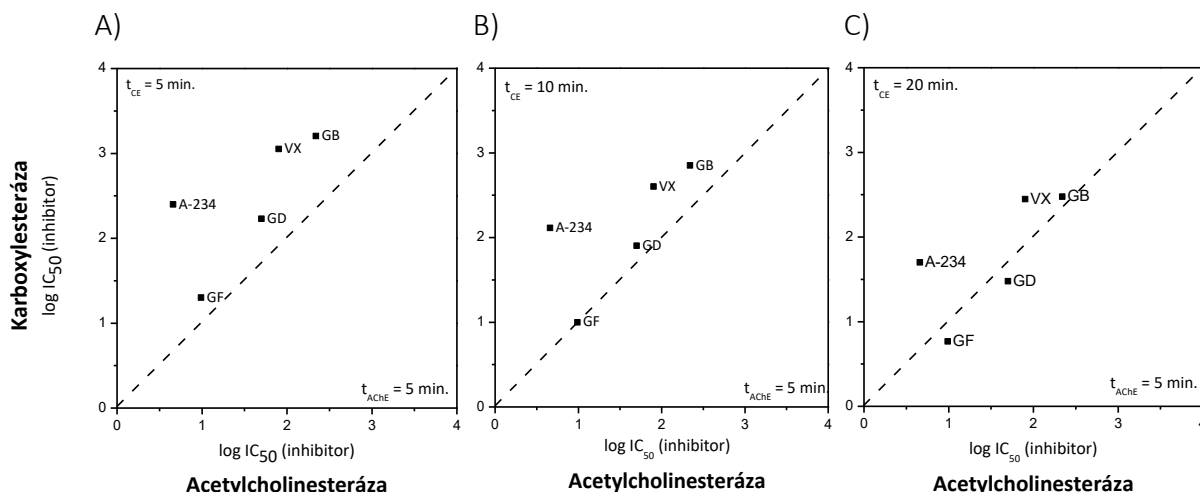
Enzym	AChE <i>Electrophorus electricus</i>			CE <i>Sus scrofa</i>		
Inkubace [min]	5	10	20	5	10	20
GB	220 ± 40	100 ± 30	60 ± 8	1600 ± 198	710 ± 110	300 ± 40
GD	50 ± 4	30 ± 4	9 ± 1	170 ± 10	80 ± 8	30 ± 3
GF	9,7 ± 0,1	5,8 ± 0,1	1,8 ± 0,5	20 ± 2	10 ± 2	5,8 ± 0,4
VX	80 ± 40	50 ± 10	30 ± 7	1130 ± 320	400 ± 70	280 ± 40
A-234	4,6 ± 0,1	3,0 ± 0,5	1,8 ± 0,4	250 ± 2	130 ± 50	50 ± 6

Při detailním srovnání naměřených kinetických dat jsou patrné výrazné disproportionální rozdíly v inhibičním chování jednotlivých analytů. Tyto rozdíly se projevují jak na úrovni analytické koncovky (AChE), tak v biorekogničním kroku na CE. Analytická koncovka vykazuje extrémně vysokou citlivost zejména k látce A-234 a GF. Naopak u GB je inhibiční účinek o více než řád nižší. Biorekogniční prvek vykazuje značně odlišnou selektivitu a pomalejší kinetiku.

Zatímco u GF dochází k efektivní inhibici již při nízkých koncentracích, u látky A-234 je CE výrazně méně citlivá než AChE. U VX a GB je interakce s CE nejslabší. Právě tato strukturní disproporce v afinitě obou enzymů tvoří základ pro konstrukci diferenčního senzoričského systému. Aby bylo možné tuto odlišnou odezvu efektivně využít pro kvalitativní diskriminaci NPL, bylo v dalším kroku nutné optimalizovat délku inkubace v jednotlivých fázích dvoukanálového měření tak, aby obě enzymatické složky přispívaly k celkovému signálu ekvivalentním a reprodukovatelným podílem.

3.2 Optimalizace inkubačního protokolu a zavedení diferenčního parametru $R(IC_{50})$

Důležitým předpokladem pro vytvoření funkčního diferenčního senzoričského systému je nalezení takového nastavení, které maximálně zvýrazní rozdíly v afinitě testovaných látek k oběma enzymatickým složkám (CE i AChE). Grafické znázornění závislosti v rovině identické odezvy (Obrázek 1A–1C) umožňuje přehledně sledovat odchylky jednotlivých NPL od diagnostické diagonály. Tato diagonála prezentuje stav, kdy vybraný inhibitor vykazuje zcela shodnou inhibiční účinnost (IC_{50}) vůči oběma enzymům. Oblast nad diagonálou ($y > x$) indikuje vyšší citlivost AChE k dané látce, zatímco oblast pod diagonálou ($y < x$) značí preferenční inhibici CE.



Obrázek 1: Srovnání inhibiční účinnosti NPL vůči AChE a CE vyjádřené pomocí logaritmických hodnot $\log(IC_{50})$ pro jednotlivé inkubační časy. A) Závislost pro identickou dobu inkubace inhibitoru s oběma enzymy (5 min CE / 5 min AChE). B) Diferenční schéma při prodloužené inkubaci s CE (10 min CE / 5 min AChE). C) Diferenční schéma při prodloužené inkubaci s CE (20 min CE / 5 min AChE). Pozn.: Diagonála v grafech vyznačuje ekvivalentní inhibiční odezvu obou enzymatických systémů, přičemž odchylky od osy indikují selektivní preferenci inhibitoru k AChE nebo CE.

Při shodné a krátké době inkubace (5 min) se většina testovaných látek (GB, GD, VX, A-234) nachází nad diagnostickou diagonálou, což odráží přirozeně vyšší afinitu AChE vůči těmto strukturám. Výjimku tvoří cyklosarin (GF), který již při krátké inkubaci prokazuje výrazný posun

směrem k CE. V tomto režimu je však rozlišovací schopnost systému pro ostatní NPL velmi omezená, neboť rozdíly v IC_{50} nedosahují dostatečné statistické významnosti pro spolehlivé rozlišení. Prodloužením inkubační doby s CE na 10 minut dochází k postupnému stechiometrickému zachytu inhibitorů v biorekogničním kanálu. Hodnoty IC_{50} pro CE klesají rychleji než u kontrolního kanálu AChE, což se v grafu projevuje vertikálním a horizontálním posunem bodů a zvyšováním rozdílů mezi jednotlivými analytickými třídami. Dvaceti minutová inkubace s CE v kombinaci s následnou pěti minutovou detekční inhibicí AChE poskytuje již výrazně rozdílné odezvy. Tato kombinace inkubačních času (20 / 5 min) poskytuje dostatečný časový prostor pro to, aby CE vytvořila stabilní adukt s reaktivními NPL, zatímco následná pěti minutová expozice AChE slouží jako rychlá a citlivá analytická koncovka pro stanovení nezreagovaného podílu NPL.

Pro kvantitativní vyjádření míry selektivity a kapacity zachytu byl zaveden poměrný parametr $R(IC_{50})$, definovaný jako $R(IC_{50}) = IC_{50}(CE + AChE) / IC_{50}(BSA + AChE)$. Tento parametr přímo udává, kolikrát se zvýší zdánlivá hodnota IC_{50} pro AChE v přítomnosti CE v důsledku odčerpání volného inhibitoru z reakční směsi (viz *Tabulka 2*). Látky A-234 a VX vykazují hodnoty $R(IC_{50})$ blízké jedničce ($R \approx 1,0 - 1,2$), což potvrzuje, že tyto látky jsou karboxylesterázou vázány relativně pomalu a CE u nich neposkytuje dostatečně silný rozlišovací efekt při dané koncentraci enzymu, přičemž mají vysokou afinitu k AChE. Látky GB a GD dosahují mírného posunu ($R \approx 2 - 4$), což odpovídá její vysoké afinitě k AChE, která částečně převyšuje kapacitu zachytu na CE. Cyklosarin (GF) vykazuje vůbec nejvyšší diferenční korelaci ($R > 40$), což z něj činí ideální modelový analyt pro ověření funkčnosti diferenčního kanálu.

Tabulka 2: Přehled hodnot $R(IC_{50})$ pro 20 min inkubaci s CE a následnou 5 min inkubaci s AChE.

<i>Inhibitor</i>	<i>GB</i>	<i>GD</i>	<i>GF</i>	<i>VX</i>	<i>A-234</i>
$R(IC_{50})$	2,64	3,67	45,33	1,00	1,18

Ačkoliv samotný parametr $R(IC_{50})$ poskytuje cennou informaci o stechiometrii zachytu, pro spolehlivé rozlišení všech pěti NPL (včetně strukturně blízkých látek) je nezbytné přejít od hodnocení jednoho skalárního bodu IC_{50} k celému profilu ředění a vícerozměrnému zpracování dat (PCA).

3.3. Dvoukanálová analýza profilu ředění NPL a vícerozměrný fingerprinting

Zatímco stanovení jednobodových hodnot IC_{50} (*Tabulka 1*) a optimalizace inkubačního schématu (*Obrázek 1*) poskytují základní přehled o afinitě a časové kinetice, reálné vzorky se často pohybují v širokém rozmezí neznámých koncentrací. Pro dosažení 100% spolehlivé identifikace bez nutnosti předchozí kvantifikace je nezbytné posuzovat odezvu biosenzoru v celém profilu ředění. Kombinace diferenčního dvoukanálového uspořádání s vícerozměrnou statistickou analýzou (PCA) umožňuje vytvořit unikátní „molekulární fingerprint“ pro každou testovanou nervově paralytickou látku.

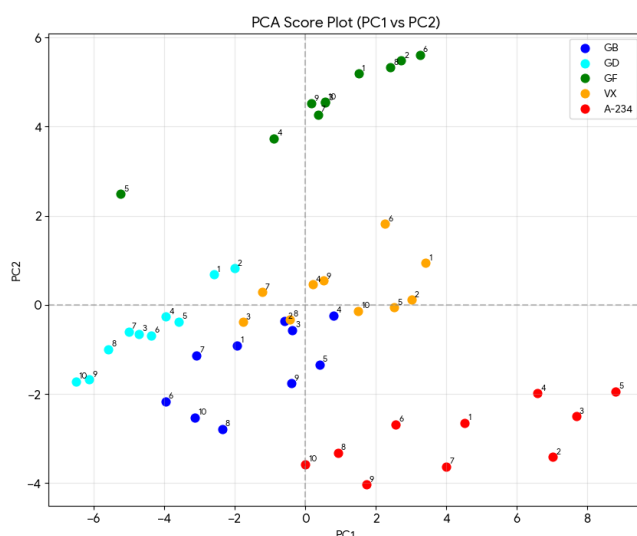
Pro chemometrickou analýzu byla vytvořena datová matice zahrnující 50 nezávislých měření (5 analytů $\times$ 10 opakování), přičemž každé měření bylo charakterizováno osmi hodnotami odpovídajícími zvolené ředicí řadě. PCA score plot (*Obrázek 2*) dokumentuje rozložení dat

po redukci dimenzionality do roviny PC1–PC2. Je patrná jasná separace všech pěti testovaných nervově paralytických látek do vzájemně oddělených oblastí skórového prostoru.

Látka A-234 (červená řada) je lokalizována v oblasti kladných hodnot PC1, zatímco látky GD a GB (světle a tmavě modrá řada) se promítají převážně do záporné části této osy. Látky VX a GF zaujímají mezipolohy s hodnotami PC1 blízkými středu skórového prostoru. Komponenta PC1 tak především odráží rozdíly v celkové inhibiční odezvě sledovaných analytů.

Výraznější separace je patrná na ose PC2, kde je jednoznačně oddělena látka GF (zelená řada), lokalizovaná v horním poloprostoru. Naproti tomu A-234 je soustředěna v oblasti záporných hodnot PC2. Látky GB, GD a VX obsazují střední oblast skórového prostoru v okolí nulové hodnoty této komponenty. Přestože mezi nimi dochází k částečnému překryvu na ose PC2, jejich vzájemné rozlišení je zajištěno rozdílnou polohou na ose PC1.

Kvantitativní vyhodnocení skórového prostoru (Obrázek 2) potvrdilo vysokou chemometrickou separabilitu všech pěti tříd analytů. Nejvyšší kladné hodnoty PC1 vykazoval A-234 (centroid $+5,06 \pm 2,96$), zatímco nejnižší hodnoty byly zaznamenány u GD ($-4,35 \pm 1,46$). Na ose PC2 se nejvýrazněji odlišoval GF s centroidem $+4,57 \pm 0,94$, zatímco ostatní analyty se nacházely v rozmezí od $-2,87$ do $+0,30$. Jednotlivé klastry byly vzájemně prostorově oddělené a žádný z 50 analyzovaných bodů nepřesahoval do sousední skupiny. Výsledky tak potvrzují vysokou selektivitu navrženého dvoukanálového biosenzorového systému pro identifikaci sledovaných NPL.



NPL	PC1	PC2
GB	$-1,56 \pm 1,50$	$-1,23 \pm 1,04$
GD	$-4,35 \pm 1,46$	$-0,61 \pm 0,79$
GF	$-0,24 \pm 2,47$	$+4,57 \pm 0,94$
VX	$+0,98 \pm 1,77$	$+0,30 \pm 0,66$
A-234	$+5,06 \pm 2,96$	$-2,87 \pm 0,70$

Obrázek 2: PCA score plot dvoukanálového diferenčního biosenzoru s využitím 8-bodové ředící řady (20x až 2000x). Grafické znázornění separace pěti NPL (GB, GD, GF, VX a A-234) v rovině prvních dvou hlavních komponent (PC1 vs. PC2) na základě datové matice 50 měření (5 analytů x 10 opakování v duplikátu). Součástí obrázku je přehled průměrných hodnot centroidů jednotlivých klastrů včetně jejich směrodatných odchylek (Mean $\pm$ SD, $n = 10$).

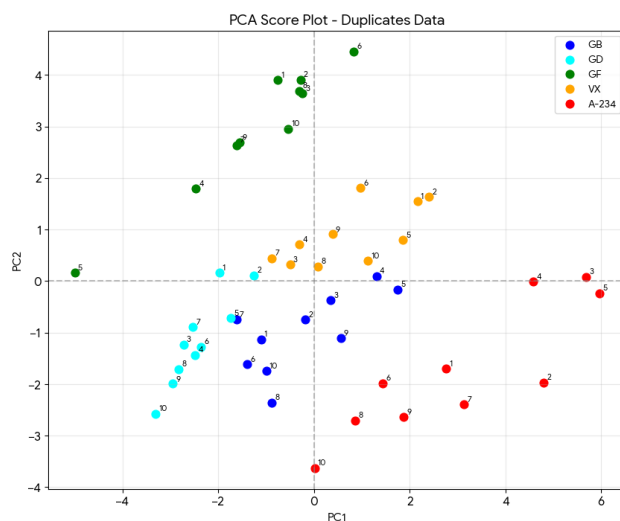
3.4. Optimalizace ředícího schématu pro rychlou identifikaci NPL

Analýza neznámého vzorku vyžadující přípravu rozsáhlé ředící řady představuje z hlediska časové i technické náročnosti významné omezení pro rutinní a zejména terénní využití biosenzoru. Z tohoto důvodu byla v dalším kroku provedena optimalizace analytického protokolu zaměřená na redukci počtu bodů ředící řady.

Navržené schéma vycházelo z dříve stanoveného dynamického rozsahu měření a současně využívalo jednoduché primární předředění vzorku (10×). Redukovaný profil zahrnoval pouze tři koncentrační body (20×, 200× a 2000×) doplněné o slepý pokus. Tímto postupem se podařilo snížit počet analytických kroků přibližně o polovinu při zachování klíčových diskriminačních parametrů systému (*Obrázek 3*).

PCA score plot získaný z redukované datové matice (*Obrázek 3*) potvrzuje, že zjednodušené schéma ředění nevedlo ke ztrátě rozlišovací schopnosti biosenzoru. Všech 50 měření (5 analytů × 10 opakování) vytváří v rovině PC1-PC2 pět vzájemně oddělených klastrů odpovídajících jednotlivým nervově paralytickým látkám.

Podobně jako u plné datové matice je A-234 lokalizována v oblasti kladných hodnot PC1 a záporných hodnot PC2, zatímco GF je jednoznačně oddělena vysokými kladnými hodnotami PC2. VX zaujímá oblast kladných hodnot obou komponent. Látky GB a GD jsou soustředěny v záporné části osy PC1, přičemž GD vykazuje nejnižší hodnoty této komponenty. Rozložení jednotlivých klastrů tak zachovává charakter separace pozorovaný u původního osmibodového schématu.



NPL	PC1	PC2
GB	- 0,46 ± 0,98	- 0,85 ± 0,96
GD	- 2,39 ± 0,86	- 1,28 ± 0,88
GF	- 1,48 ± 1,49	+ 2,89 ± 1,18
VX	+ 1,08 ± 1,02	+ 0,92 ± 0,56
A-234	+ 3,25 ± 2,31	- 1,68 ± 1,08

Obrázek 3: PCA score plot redukované datové matice dvoukanálového diferenčního biosenzoru s využitím zjednodušeného schématu ředění (20×, 200× a 2000×). Grafické znázornění separace pěti NPL (GB, GD, GF, VX a A-234) v rovině prvních dvou hlavních komponent (PC1 vs. PC2) na základě datové matice 50 měření (5 analytů × 10 opakování v duplikátu). Součástí obrázku je přehled průměrných hodnot centroidů jednotlivých klastrů včetně jejich směrodatných odchylek (Mean ± SD, n = 10).

Kvantitativní porovnání obou modelů ukázalo, že redukce datové matice vedla k poklesu vnitroklastrové variability. Například směrodatná odchylka centroidu A-234 na ose PC1 klesla z 2,96 na 2,31 a u GD z 1,46 na 0,86. Současně nedošlo k významnému přiblížení centroidů jednotlivých skupin a všechny analyzované body byly správně klasifikovány do odpovídajících klastrů.

Výsledky potvrzují, že čtyřbodový profil tvořený třemi body ředicí řady a slepým pokusem poskytuje plnohodnotný chemometrický fingerprint sledovaných NPL. Zjednodušený protokol významně snižuje náročnost přípravy vzorku i celkové analýzy, aniž by byla negativně ovlivněna selektivita nebo spolehlivost identifikace.

4. ZÁVĚR

Předložená práce představuje novou analytickou metodiku využívající dvoukanálový diferenční biosenzor v kombinaci s vícerozměrnou chemometrickou analýzou (PCA) pro selektivní identifikaci a rozlišení NPL. Koncepce biosenzoru je založena na diferenčním uspořádání využívajícím stechiometrický záchyt analytu na karboxylesteráze (CE) v prvním kanále a následné stanovení reziduálního inhibitoru pomocí acetylcholinesterázy (AChE) ve druhém kanále. Navržený systém generuje charakteristickou dvoupárametrovou odezvu, která umožňuje nejen stanovit míru inhibice, ale současně postihnout rozdíly v afinitě jednotlivých látek k oběma enzymatickým systémům. Funkčnost navrženého konceptu byla nejprve ověřena na úplné datové matici zahrnující osmibodovou ředicí řadu. Analýza hlavních komponent (PCA) v rovině PC1-PC2 prokázala jednoznačnou separaci všech pěti testovaných NPL bez vzájemného překryvu jejich klastrů. První hlavní komponenta (PC1), odrážející celkovou inhibiční odezvu systému, výrazně odlišila látku A-234 od ostatních analytů. Druhá komponenta (PC2), související s mírou záchytu analytu na karboxylesteráze, umožnila jednoznačnou identifikaci cyklosarinu (GF) díky jeho specifické interakci s CE. S ohledem na požadavky budoucího praktického a terénního využití byla následně provedena optimalizace analytického protokolu. Původní osmibodová ředicí řada byla nahrazena zjednodušeným schématem využívajícím primární předředění vzorku (10×) a tři pracovní koncentrační body (20×, 200× a 2000×) doplněné o slepý pokus. Tím došlo ke snížení počtu analytických kroků přibližně o polovinu při zachování rozlišovací schopnosti systému. Vyhodnocení redukované datové matice metodou PCA potvrdilo, že zjednodušený protokol zachovává jednoznačnou separaci všech sledovaných NPL. Současně bylo pozorováno snížení vnitroklastrové variability, což vedlo ke kompaktnějšímu uspořádání dat ve skórovém prostoru. Všechna měření byla správně klasifikována do odpovídajících skupin analytů a vzájemné vzdálenosti centroidů jednotlivých klastrů zůstaly dostatečné pro jejich spolehlivé rozlišení.

Získané výsledky potvrzují, že navržený dvoukanálový diferenční biosenzor představuje perspektivní nástroj pro rychlou orientační identifikaci nervově paralytických látek. Kombinace enzymově založeného diferenčního měření s chemometrickým zpracováním dat poskytuje robustní základ pro vývoj jednoduchých přenosných bioanalytických systémů určených pro laboratorní i terénní aplikace.

Poděkování

Tato práce byla finančně podpořena projektem DZRO-UOPZHN22-PROTECT II („Výzkum metod a technologií ochrany před účinky zbraní hromadného ničení a průmyslových nebezpečných látek II“), financovaným Ministerstvem obrany České republiky.

Použitá literatura

- [1] GUPTA R.C. Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents. 3rd ed. Boston: Academic Press, 2020. ISBN 978-0-12-819090-6.
- [2] CASIDA J. E., QUISTAD G. B. Serine hydrolase targets of organophosphates. *Chemico-Biological Interactions*. 2005, 157–158, 277–283. ISSN 0009-2797.
- [3] SILMAN I., SUSSMAN J. L. Acetylcholinesterase: 'how it designs its site'. *Current Opinion in Structural Biology*. 2008, 18(6), 675–682. ISSN 0959-440X.
- [4] WITKIEWICZ Z., NEFFE S. Chromatographic analysis of chemical warfare agents and their metabolites in biological samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2020, 130, 115960. ISSN 0165-9936. DOI: 10.1016/j.trac.2020.115960.
- [5] BACHMANN T. T., LECA B., VILATTE F., MARTY J. L., FOURNIER D., SCHMID R. D. Improved multianalyte detection of organophosphates and carbamates with disposable multielectrode biosensors using recombinant mutants of *Drosophila* acetylcholinesterase and artificial neural networks. *Biosensors and Bioelectronics*. 2000, 15(3–4), 193–201. ISSN 0956-5663. DOI: 10.1016/S0956-5663(00)00055-5.
- [6] SCHULZE H., VILATTE F., SIKORSKI R., MENGES M., SCHMID R. D., BACHMANN T. T. Insecticide detection through protein engineering of *Nippostrongylus brasiliensis* acetylcholinesterase B. *Analytical Chemistry*. 2005, 77(18), 5823–5830. ISSN 0003-2700. DOI: 10.1021/ac050383p.
- [7] SHAO Y., WANG M., CAO J., SHE Y., CAO Z., XIAO M., JIN F., WANG J., ABD EL-ATY A. M. Recognition of organophosphate and carbamate pesticides by cholinesterase sensor arrays on the basis of enzymes from different organisms. *Microchemical Journal*. 2024, 205, 111668. ISSN 0026-265X. DOI: 10.1016/j.microc.2024.111668.
- [8] HASSAN S. S. M., KAMEL A. H., HASSAN A. A. Biosensors for detection of organophosphate pesticides: Current technologies and future directives. *Microchemical Journal*. 2022, 178, 107420. ISSN 0026-265X. DOI: 10.1016/j.microc.2022.107420.
- [9] BUCUR B., MUNTEANU F.-D., MARTY J.-L., VASILESCO A. Advances in Enzyme-Based Biosensors for Pesticide Detection. *Biosensors*. 2018, 8(2), 27. ISSN 2079-6374. DOI: 10.3390/bios8020027.
- [10] ELLMAN G. L., COURTNEY K. D., ANDRES V. a FEATHERSTONE R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*. 1961, 7(2), 88-95. ISSN 0006-2952.
- [11] HOSKOVCOVÁ M., HALÁMEK E., KOBLIHA Z., KASALOVÁ I. Proposal for selective differentiating of nerve agent G and V type with utilisation of modified Ellman's method. *Environmental Chemistry Letters*. 2009, 7(3), 277–281. ISSN 1610-3653. DOI: 10.1007/s10311-008-0167-x.
- [12] ŽERAVÍK J., HOSKOVCOVÁ M. Vliv biogenních iontů na formování enzym-inhibitorového komplexu u cholinesteráz. *HAZMAT PROTECT 2022*. Česká republika: SÚJCHBO, v.v.i, Kamenná, Česká republika, 2022, roč. 4, s. 194-206. ISBN 978-80-11-01902-0.
- [13] RIBONE S. R., QUEVEDO M. A. Experimental and In Silico Approaches to Study Carboxylesterase Substrate Specificity. *Journal of Xenobiotics*. 2026, 16(1), 11. ISSN 2039-4713. DOI: 10.3390/jox16010011.

PARTNEŘI – PARTNERS

Hlavní partneři konference Hazmat Protect 2026 – General partners



Metrohm je mezinárodní společnost poskytující řešení pro chemickou analýzu v široké řadě průmyslových odvětvích. Naše ruční systémy jsou určeny pro identifikaci toxických a nebezpečných chemikálií, výbušnin, prekursorů a výchozích materiálů. Mezi naše zákazníky patří armádní týmy, Hazmat týmy, celníci a složky integrovaných záchranných systémů po celém světě.

Metrohm is an international company providing chemical analysis solutions for a variety of industries. Our handheld identification systems are purpose built for the identification of toxic and hazardous chemicals, explosives, precursors and starting materials. Our customers include military, customs, first responder and hazmat teams, and law enforcement.

www.metrohm.cz



Přední světová technologická společnost na výrobu netkaných textilií dodávající revoluční technické tkaniny pro jedinečné průmyslové použití i v těch nejextrémnějších pracovních podmínkách včetně použití pro CBRN ochranu.

The world's leading nonwoven fabric-tech company producing revolutionary technical fabrics for unparalleled industry performance in even the most extreme working conditions including the use for CBRN protection.

www.nonwovenn.com

Partneři – Partners



Firma BAS Rudice s.r.o. je dodavatelem detekční a analytické techniky na principu Ramanovy spektrometrie, rentgenové fluorescence a rentgenových zobrazovačů (backscatter). Působí na trhu v ČR a SR a dodává komplexní řešení na klíč.

Company BAS Rudice is distributor of Raman spectroscopy instruments, ED-XRF spectrometers both hand held and bench top and also mobile backscatters.

www.bas.cz



Společnost poskytující komplexní služby v oblasti ochrany životního prostředí – nakládání s CBRN látkami, likvidace nebezpečných odpadů, sanace znečištěné podzemní i povrchové vody a zeminy, environmentální poradenství ad.

Renowned Central/Eastern European environmental company of international competency offering a comprehensive package of environmental services, including CBRN materials treatment, hazardous waste treatment, remediation of contaminated soil and water.

www.dekonta.cz



Chromservis s.r.o. je česká společnost založená v roce 1989, která se zaměřuje na laboratorní a procesní analytiku. Dodává přístroje a příslušenství pro chromatografii, přípravu vzorků, měření a regulaci technologických procesů i detekci plynů. Kromě distribuce produktů předních světových výrobců vyvíjí a vyrábí vlastní HPLC kolony a související produkty značek ARION, ASTRA a CHROMSHELL. Zákazníkům poskytuje odbornou aplikační, technickou a servisní podporu.

<https://www.chromservis.eu/cz>

Chromservis s.r.o. is a Czech company founded in 1989, specializing in laboratory and process analytics. It supplies instruments and accessories for chromatography, sample preparation, process measurement and control, and gas detection. In addition to distributing products from leading global manufacturers, the company develops and manufactures its own HPLC columns and related products under the ARION, ASTRA, and CHROMSHELL brands. Chromservis also provides expert application, technical, and service support.

<https://www.chromservis.eu/EN>



Divize Laboratorní přístroje: Vývoj a výroba laboratorní přístroje pro analytické a chemické laboratoře. Nabízíme přístroje plně srovnatelné se zahraniční konkurencí, stejně jako vysoce kvalitní zákaznickou podporu. Více než čtyřicetiletá zkušenost našich techniků v kombinaci se spoluprací s různými specialisty nám umožňuje navrhovat a vyrábět spolehlivé a robustní přístroje s

nízkými provozními náklady, přirozeně v souladu s korporátní environmentální politikou a ISO normami.

Laboratory Instruments Division: Development and manufacturing of laboratory instruments for analytical and chemical laboratories. We offer instruments fully comparable to foreign competitors as well as high quality customer support. More than forty years of experience of our engineers combined with collaboration with various specialists allows us to design and manufacture reliable and robust instruments with low operating costs, naturally in compliance with corporate environmental policy and ISO standards.

www.ingos.cz

PW Krystian je polský výrobce specializovaných ochranných oděvů s více než 35 lety zkušeností. Dodáváme certifikovaná řešení pro odvětví s nejvyšší mírou rizika, včetně nehořlavých, kyselinovzdorných a antistatických ochranných oděvů. Působíme na 11 evropských trzích. Naším přístupem jsou individuálně navržená řešení namísto katalogových produktů a plná kontrola nad evropským dodavatelským řetězcem. Nabízíme komplexní podporu při správě životního cyklu ochranných oděvů a zavádění systémů automatizace, které pomáhají eliminovat prostoje a snižovat provozní náklady podniků.



PW Krystian is a Polish manufacturer of specialist protective clothing with more than 35 years of experience. We provide certified solutions for industries operating in the most demanding and high-risk environments, including flame-resistant, chemical-resistant, and antistatic protective clothing. We operate in 11 European markets. Our approach is based on tailor-made solutions rather than standard catalogue products, combined with full control over our European supply chain. We also offer comprehensive support in garment lifecycle management and the implementation of automated clothing management systems, helping companies eliminate downtime, improve operational efficiency, and reduce operating costs.

<https://www.pwkrystian.com/>



Společnost **Nicolet CZ s.r.o.** se již od roku 2000 věnuje zejména molekulové spektroskopii, mikroskopii a nanoskopii (FTIR, FTNIR, Raman, FT-Raman, IR imaging, atd.). **Nicolet CZ s.r.o.** je výhradním dodavatelem pro Českou republiku výrobků následujících firem: Thermo Scientific, Attocube, IRIS, BW Tek OEM., S+I Spectroscopy and Imaging GMBH, Designs & Prototypes.

Nicolet CZ s.r.o. was founded in 2000 and has been focused mainly on molecular spectroscopy, microscopy and nanoscopy (FTIR, FTNIR, Raman, FT-Raman, IR imaging, etc.). **Nicolet CZ s.r.o.** is the exclusive supplier for the Czech Republic of Products of the following companies: Thermo Scientific, Attocube, IRIS, BW Tek OEM., S+I Spectroscopy and Imaging GMBH, Designs & Prototypes.

<http://www.nicoletcz.cz>



Vývoj a výroba certifikovaných CBRN filtro-ventilačních jednotek s filtry s účinností až 99,999% MPPS pro filtraci částic menších než 0,0001 mm. Vhodné jsou pro kolektivní ochranu osob, kryty, bunkry, kontejnery, polní nemocnice, operační sály, pooperační péči, školy nebo rodinné domy.

www.cbrn-filtroventilace.cz

A Czech company which develops and manufactures certified CBRN filter ventilation with filters offering efficiency of up to 99.999% MPPS for particles down to 0.0001 mm. Suitable for civil protection of people, shelters, bunkers, containers, field hospitals, operating theatres, after-care, schools or houses.

<https://www.cbrn-filtroventilace.cz/en>



Dodavatel široké palety přístrojů pro CBRNe analýzu. Ruční, mobilní i stacionární přístroje pro chemickou, radiační a biologickou detekci a detekci výbušnin. Specializované FT-IR a NIR spektrometry, Ramanovy spektrometry a Ramanovy mikroskopy (včetně mobilních), hmotnostní spektrometry (mobilní s stacionární on-line monitoring), mobilní GC-MS, specializované ED XRF spektrometry, detektory výbušnin, testy na drogy a výbušniny, gama spektrometry, odběr biologických aerosolů a identifikace bioagens, rentgenové back scatter a prozařovací detektory. Vývojová a výzkumná řešení.

Supplier of a wide range of instruments for CBRNe analysis. Handheld, portable and benchtop instruments for chemical,

radiological and biological detection, as well as explosives detection. Specialised FT-IR and NIR spectrometers, Raman spectrometers and Raman microscopes (including portable models), mass spectrometers (portable and benchtop models for online monitoring), portable GC-MS, specialised ED XRF spectrometers, explosive detectors, drug and explosive testing kits, gamma spectrometers, biological aerosol sampling and bioagent identification, X-ray backscatter and transmission detectors. Research and development solutions.

[Bezpečnostní aplikace - RMI](#)



STARMANS electronics je inženýrská a výrobní společnost, která poskytuje pokročilé technologické produkty a řešení pro nedestruktivní testování a vyhodnocení. Vyvíjíme, navrhujeme a vyrábíme přenosné ultrazvukové zařízení a systémy pro ultrazvukovou, infračervenou, magneto-práškovou inspekci a X-ray testování. STARMANS electronics je ISO certifikovaná a proexportně orientovaná společnost, která poskytuje nástroje, systémy a aplikace v mnoha zemích po celém světě.

STARMANS electronics is an engineering and manufacturing company that provides advanced technological products and solutions for nondestructive testing and evaluation. We develop, design, and manufacture portable ultrasonic devices and systems for ultrasonic, infrared, magnetic particle and X-ray testing. STARMANS electronics is an ISO-certified, export-oriented company that provides tools, systems, and applications in many countries around the world.

<https://cs.starmans.net/>

OKAMŽITÁ A SPOLEHLIVÁ DETEKCE A IDENTIFIKACE NEBEZPEČNÝCH LÁTEK

ICON-X

Nový ruční Ramanův spektrometr s laserem 1064 nm

Okamžitá identifikace neznámých látek v terénu – kontaktně i z bezpečné vzdálenosti

Rigaku Icon-X je ruční Ramanův spektrometr nové generace určený pro

rychlou identifikaci chemických látek přímo v místě zásahu.

Laser s vlnovou délkou 1064 nm výrazně potlačuje fluorescenci, a umožňuje tak spolehlivě analyzovat také barevné, znečištěné nebo obtížně měřitelné vzorky.

- Kontaktní i distanční „stand-off“ analýza podezřelých látek
- Identifikace narkotik, výbušnin, prekurzorů, CWA a toxických průmyslových chemikálií
- Spektrální knihovna s více než 13 250 látkami
- Automatická analýza směsí až pěti složek
- Měření látek přes průsvitné obaly bez otevírání a odběru vzorku + ball probe sonda
- Rychlé zpracování výsledků přímo v terénu
- Robustní provedení IP68 a MIL-STD-810H
- Velký dotykový displej a podsvícená klávesnice pro práci v rukavicích
- Integrovaná kamera, GPS a bezdrátový přenos dat
- Vyměnitelná baterie za provozu – hot-swap

Informace na www.bas.cz/icon-x



RAVEN

Ruční rentgenový Backscatter

zobrazovač 140 / 160 kV

Kompaktní ruční systém pro rychlé a neinvazivní odhalování drog, výbušnin, zbraní a dalšího kontrabandu ukrytého ve vozidlech, zavazadlech, stěnách a konstrukčních dutinách.

- Výkonný rentgenový zdroj 140 nebo 160 kV
- Zobrazení organických materiálů a skrytých předmětů v reálném čase
- Penetrace zpětného rozptylu až přes 13 mm oceli
- Integrovaný 7" Full HD dotykový displej čitelný na slunci
- Nízká hmotnost necelých 5,5 kg včetně baterie
- Výdrž baterie více než 8 hodin a výměna za provozu
- AI nástroje pro automatickou detekci vybraných hrozeb
- Volitelné funkce pro detekci olova, radionuklidů a materiálovou diskriminaci

Informace na www.bas.cz/raven



BAS[®]
Rudice s.r.o.

35 let na trhu

Pro více informací kontaktujte distributora pro ČR a SR: BAS Rudice s.r.o.
tel: +420 541 126 090 | www.spektrometry.cz | email: bas@bas.cz

www.bas.cz



WatchGas SST Range: Komplexní řešení pro osobní detekci plynů

Řada SST (Smart Safety Technology) společnosti WatchGas představuje moderní ekosystém přenosných detektorů plynů, dokovacích stanic a nástrojů pro správu zařízení. Je navržena pro průmyslové provozy, energetiku, petrochemii, vodohospodářství, logistiku i servisní organizace, kde je klíčová ochrana pracovníků před nebezpečnými koncentracemi toxických a hořlavých plynů.

Hlavní prvky SST řešení

SST1 / SST1E

- Jednoplýnové osobní detektory pro H_2S , CO, O_2 a SO_2 .
- Dostupné v servisovatelném i bezúdržbovém provedení s životností až 2 až 3 roky.
- Nízké provozní náklady, jednoduché používání a vysoká odolnost pro náročné pracovní podmínky.

SST4 Micro, Mini a Pump

- Víceplynové detektory pro monitorování až čtyř plynů současně.
- Vhodné pro vstupy do uzavřených prostor, průmyslové provozy a aplikace vyžadující kontinuální monitoring.
- Verze Pump umožňuje odběr vzorků z obtížně přístupných míst.

SST5

- Víceplynový detektor pro 5 plynů



SST Dock

- Automatizovaná dokovací stanice pro bump testy, kalibrace a správu zařízení.
- Zajišťuje rychlé ověření provozuschopnosti detektorů a snižuje administrativní zátěž.

RTR Software a Device Link App

- Centralizovaná správa flotily detektorů.
- Evidence kalibrací, alarmů, expozic a provozních dat.
- Kontrola dodržování předpisů, auditů a preventivní údržby.

Klíčové přínosy pro uživatele

- Zvýšení bezpečnosti pracovníků díky rychlé a spolehlivé detekci nebezpečných plynů.
- Automatizace kontrol, kalibrací a dokumentace.
- Přehled o stavu zařízení v reálném čase.
- Škálovatelné řešení od jednotek přístrojů až po rozsáhlé průmyslové provozy.

Jeden ekosystém, kompletní kontrola

Filozofie SST spočívá v propojení osobních detektorů, dokovacích stanic a softwarové platformy do jednotného systému. Výsledkem je vyšší úroveň bezpečnosti, jednodušší správa zařízení a kvalitní data pro rozhodování bezpečnostních a provozních manažerů.



Autorizovaný distributor WatchGas pro Českou republiku.

Kompletní řešení pro CBRNe analýzu

Identifikace neznámých látek, včetně směsí, par a plynů (Raman, SERS Raman, FT-IR, NIR, Stand OFF Raman a pasivní Stand OFF FT-IR, ED XRF).

Detekce stopových obsahů na površích a v ovzduší (FT-IR, mobilní hmotnostní spektrometry a mobilní GC-MS, on-line MSⁿ)

Ruční a „back pack“ spektrometry pro identifikaci radioizotopů

Odběr a identifikace biologických hrozeb

Stopová a ultrastopová detekce výbušnin

Zákaznická a výzkumná řešení,
implementace s drony
a robotickými prostředky



TRUNARC DELTA



VIPIR



PENDAR X10



IDENTIFINDER 425



GRIFFIN G510



MX908



+420 466 921 404

sale@rmi.cz

www.rmi.cz





STARMANS electronics

SPECIALISTA NEDESTRUKTIVNÍHO TESTOVÁNÍ

Výzkum • vývoj • výroba zařízení pro průmysl a dopravu



www.starmans.net

ndt@starmans.cz | tel. +420 225 442 245

Sborník článků z 6. ročníku odborné konference Hazmat Protect 2026

pořádané ve dnech 16. – 17. září 2026 Státním ústavem jaderné, chemické a biologické ochrany, v. v. i. v Kamenné, Česká republika

Kolektiv autorů

Vydal:

Státní ústav jaderné, chemické a biologické ochrany, v. v. i.,
Kamenná 71, Milín 262 31, Česká republika, 2026

1. vydání, on-line verze, počet stran: 84

Editor, grafická úprava: Ing. Kamila Lunerová, Ph.D., SÚJCHBO, v. v. i.

Dostupné on-line na adrese <https://hazmat-protect.sujchbo.cz> v ročníku konference Hazmat Protect 2026.

Nebyla provedena jazyková korektura. Za věcnou správnost jednotlivých příspěvků odpovídají autoři.

Proceedings from 6th Scientific Conference Hazmat Protect 2026

held on 16th – 17th September 2026 at National Institute for NBC Protection, Kamenna, Czech Republic

Collective of authors

Issued by:

National Institute for Nuclear, Biological and Chemical Protection,
Kamenná 71, Milín 262 31, Czech Republic, 2026

1. issue, on-line version, number of pages: 84

Editor, graphics: Ing. Kamila Lunerová, Ph.D., SÚJCHBO, v. v. i.

On-line version available at <https://hazmat-protect.sujchbo.cz> in Hazmat Protect 2026 year.

Without language editing. The objective corectness is on responsibility of authors of contributions..



Státní ústav jaderné, chemické a biologické ochrany, v. v. i.
National Institute for NBC Protection
Kamenná 71, Milín 262 31, Czech Republic
<https://hazmat-protect.sujchbo.cz>

ISBN 978-80-909301-5-5



9 788090 930155