

Blýská se na lepší časy ve vývoji procesů?

Počátkem ledna 2008 schválilo představenstvo společnosti Unipetrol realizaci dvou investičních akcí, vybudování výroby technického dicyklopentadienu a výroby nehydrogenované frakce uhlovodíků C9. Kapacita výroby technického dicyklopentadienu bude 25 kt rok⁻¹, u frakce C9 pak až 40 kt rok⁻¹. Oba produkty se používají jako monomery pro výrobu uhlovodíkových pryskyřic. Ve frakci C9 jsou polymerizovatelnými uhlovodíky inden a isomery methylstyrenu. Indenové pryskyřice se vyrábějí již asi 90 let, inden byl a stále je získáván z koksárenského dehtu. V Evropě je nedostatek obou monomerů a zdá se, že Unipetrol RPA Litvínov nebude mít s odbytem potíže. Uhlovodíkové pryskyřice patří mezi levné makromolekulární produkty, které se používají při výrobě lepidel, podlahových krytin, při impregnaci papíru, na výrobu inkoustů a v mnoha jiných oblastech.

Novými produkty rozšíří Unipetrol RPA své výrobní portfolio a prohloubí využití vedlejších produktů ethylenové pyrolýzy. V tomto směru naváže na úspěšné zavedení výroby naftalenového koncentráту z plynového pyrolyzního oleje.

V českém chemickém průmyslu se realizují větší investiční akce, než je výroba zmíněných monomerů, kde je rozsah investice několik set milionů korun. Např. připravovaná nová výroba butadienu v Kaučuku Kralupy představuje podstatně větší částku. Pro chemiky pracující ve vývoji procesů je však zmíněná akce Unipetrolu významná tím, že know-how bylo vyvinuto na domácí půdě spoluprací technického odboru Unipetrol RPA, Ústavu organické technologie VŠCHT Praha a Výzkumného ústavu anorganické chemie Ústí nad Labem. Nemohu mluvit za jiná odvětví chemického průmyslu, avšak ve výrobě základních chemikálií se u nás investuje relativně málo a z větší části na základě cizího know-how. Nicméně se v posledních letech přece jen něco podařilo. Známy je prodej know-how na výrobu anilinu z BC-MCHZ Ostrava japonské firmě Tosoh. Dnes je jednotka anilinu Tosoh s kapacitou téměř 300 kt rok⁻¹ pravděpodobně největší výrobnou anilinu na světě. Paralelně se v letech 2005 až 2008 rozšířila výroba anilinu v BC-MCHZ vybudováním dvou nových reaktorů a nových rektifikačních kolon.

Inženýři ze Spolku pro chemickou a hutní výrobu jsou velmi aktivní v oblasti technologie epichlorhydrinu.

V minulosti prodali know-how do Thajska a na Taiwan a nyní realizovali novou výrobu epichlorhydrinu na bázi glycerolu. Glycerol je dnes odpadem při masové výrobě methylesterů mastných kyselin, tzv. biodieselu. V učebnicích ještě najdeme postupy na výrobu syntetického glycerolu právě z epichlorhydrinu. Inženýři ze Spolku to dnes dělají naopak a jsou mezi prvními na světě. Osobně považují zpracování glycerolu na epichlorhydrin za nejlepší způsob z mnoha nabídek na využití glycerolu, protože zachovává všechny tři substituce na řetězci.

Bohužel mnoho dalších příkladů na využití domácího know-how nenajdeme. Uvedu jeden odstrašující. Biotechnologický proces výroby kyseliny citronové z cukru, který nahradil výrobu tohoto produktu z citronů, byl v Evropě poprvé zaveden v Kaznějově v r. 1927. Mnoho našich výzkumných pracovišť se zabývalo zvládnutím tzv. objemového kvašení, aby se nakonec tento proces koupil ze zahraničí a brzy po spuštění nové jednotky byla výroba kyseliny citronové v Kaznějově zrušena. Troufám si říci, že zavedení biotechnologického procesu na výrobu citronové kyseliny byla nejvyšší inovace českého chemického průmyslu za celou dobu jeho existence. A co z toho zbylo?

Nejvíce aplikací výzkumu v chemické výrobě potkáme v oblasti speciálních chemikálií. Bohužel český chemický průmysl se v minulosti nezmocnil ani jediného odvětví speciální chemie. A tak se zdá, že aplikovaný výzkum nepotřebujeme a ruší se jedno výzkumné pracoviště za druhým. Manažeři by si měli uvědomit, že výzkumná pracoviště nejen obohacují a zlepšují výrobu, ale byla vždy hlavní zásobárnou kádrů pro téměř všechny funkce v podniku.

I chemický průmysl se globalizuje, a tak se zbývající výzkumné kapacity mohou orientovat na zahraniční firmy. A to není jen případ prof. Holého ve vývoji léků. Např. i náš Ústav organické technologie se stále více orientuje na zahraniční firmy.

Zdá se, že nový vlastník Unipetrolu PKN Orlen přeje rozvoji, a to nejen v Litvínově, i v Kaučuku a Spolaně se nové věci připravují. Doufejme, že nová litvínovská investice z domácí výzkumné kuchyně není ojedinelým zablýsknutím a že se snad v našem aplikovaném chemickém výzkumu blýská na lepší časy. Otazník však zůstává.

Josef Pašek

JE NÁHRADA ETBE ZA MTBE VÝHROU?

MILUŠE VOŠAHLÍKOVÁ, KATEŘINA
DEMNEROVÁ a JARMILA PAZLAROVÁ

Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-
technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha
miluse.vosahlkova@vscht.cz

Došlo 31.10.06, přepracováno 22.10.07, přijato 27.10.07.

Klíčová slova: MTBE, ETBE, toxicita, biodegradace

Obsah

1. Úvod
2. Srovnání výhod a nevýhod v použití ETBE oproti MTBE
3. Toxicita ETBE
4. Pravděpodobnost biodegradace ETBE po úniku do životního prostředí
5. Závěr

1. Úvod

S rozvojem automobilové dopravy ve 20. století vznikl nový zdroj možností kontaminace životního prostředí – výfukové plyny nebo nekontrolovatelný únik ropy a jejích derivátů při přepravě či skladování. Mezi možnostmi, které pomáhají snižovat znečištění životního prostředí spojené s autodopravou, je zajištění kvalitního spalování benzínu a tím omezení škodlivých emisí. Toho se dá dosáhnout volbou vhodných benzinových aditiv.

V Evropě se od roku 1930 používaly v širokém měřítku jako aditiva sloučeniny obsahující kovy (např. tetraethylolovo či tetramethylolovo), které ovšem posléze představovaly obrovskou zátěž pro životní prostředí¹. V posledních desetiletích byla hledána náhrada těchto látek a postupně byla zavedena do provozu nová skupina sloučenin v podobě alifatických alkoholů a dialkyletherů. Jako kyslíkaté látky jsou používány především ethery – *tert*-butyl(ethyl)ether (ETBE), *tert*-amyl(methyl)ether (TAME), *tert*-butyl(methyl)ether (MTBE) a diisopropylether (DIPE). Produkce tzv. reformovaných benzinů (RFG), používajících jako antidetonanční složku hlavně kyslíkaté látky, začala v 70. letech v USA, poté se rozšířila do států Evropy. U RFG je kladen velký důraz na omezení škodlivých emisí. Mezi další aditiva patří skupina sloučenin označovaná jako BTEX (benzen, toluen, ethylbenzen, *o*-xylen, *m*-xylen a *p*-xylen). Tyto přísady zvyšují oktanové číslo benzínu, zlepšují jeho spalování a také snižují objem

škodlivých emisí^{2–4}. Mezi kyslíkatými sloučeninami našel největší uplatnění MTBE díky nízkým nákladům při výrobě. Běžně používaná koncentrace MTBE v bezolovnatých benzínech v USA se pohybuje kolem 10–15 obj.%, v České republice do 10 obj.%, dávkování je v souladu s ČSN EN 228, která povoluje maximální dávku 15 obj.%. Obsah ostatních sledovaných látek v benzínu je podle ČSN EN 228 následující: benzen do 1 % (v/v) a aromáty do 35 % (v/v). V České republice je MTBE přidáván do benzínu od roku 1992.

Avšak ani těmito novými sloučeninami nebyl vyřešen ekologický problém spojený s automobilovou dopravou. Po úniku pohonných hmot do životního prostředí dochází k jejich rozptýlení podle fyzikálně-chemických vlastností, které jsou shrnuty v tabulce I. Nejrozšířeněji používaný MTBE byl pak detegován v povrchových a spodních vodách, na částicích půdy a v neposlední řadě i v ovzduší.

První zprávy o kontaminaci spodní vody MTBE byly zaznamenány v Kalifornii v USA, kde se začal používat od roku 1970. MTBE díky dobré rozpustnosti ve vodě putuje se spodními proudy a může se takto rozšířit do širokého okolí od zdroje kontaminace. Jelikož má silný etherický zápach a chuť, k znehodnocení vody stačí koncentrace okolo 100 $\mu\text{g l}^{-1}$ (cit.⁵). Spotřeba MTBE v USA však i nadále stoupala, počáteční produkce 10 000 tun v roce 1970 se zvýšila až na 10 000 000 tun v roce 1998 (cit.⁶). Když byly prokázány souvislosti kontaktu s MTBE se zdravotními problémy, bylo MTBE věnováno více pozornosti. Po zjištění negativních účinků MTBE na lidský organismus zařadila Environmental Protection Agency U.S. (U.S. EPA) (Agentura pro ochranu životního prostředí) tuto sloučeninu mezi „sledované látky“. Podrobných studií o působení MTBE na člověka je zatím ale málo. Ojedinelé práce sledují akutní účinek MTBE po inhalaci na nervovou, trávicí a dýchací soustavu. Výsledky zatím nejsou uzavřeny^{7–10}, ale přesto se začaly hledat nové alternativy za MTBE. Jako nadějná náhrada se jeví ETBE. Bude však ETBE k životnímu prostředí šetrnější?

2. Srovnání výhod a nevýhod v použití ETBE oproti MTBE

Jednou z předností použití ETBE by byla jeho výroba, ve které se může uplatnit ethanol, jenž lze získat z obnovitelných zdrojů. Využití komponent z obnovitelných zdrojů pro výrobu motorových paliv představuje velmi aktuální problém, ETBE by tak znamenal významnou výzvu pro rafinérský průmysl. Přestavět linky dosud zaměřené na produkci MTBE by neměl být významný problém, na produkci ETBE může být převedena prakticky každá jednotka na výrobu MTBE. Určité úpravy, především změna nástřikového patra hlavní separační kolony

Tabulka I

Přehled chemických a fyzikálních vlastností vybraných aditiv pohonných hmot měřených při 25 °C

Látka	M_r	t_v [°C]	ρ [g ml ⁻¹]	Rozpustnost ve vodě [mg l ⁻¹]	Tenze par [mm Hg]	Henryho konstanta [atm cm ³ mol ⁻¹]
MTBE	88,15	54	0,74	50 000	251,0	1 500,0
TBA	74,12	83	0,79	neomezená	41,0	12,0
ETBE	102,18	67	0,73	26 000	152,0	2 700,0
DIPE	102,18	91	0,74	9 000	150,0 ^a	6 900,0
TAME	102,18	86	0,77	20 000	68,0	1 300,0
Ethanol	46,07	79	0,79	neomezená	53,0	5,9
Methanol	32,04	65	0,80	neomezená	122,0	4,4
Benzen	78,11	80	0,88	2	86,0	5 400,0
toluen	92,13	111	0,87	535	28,0	5 900,0
Ethylbenzen	106,16	136	0,87	161	10,0	8 400,0
<i>m</i> -Xylen	106,16	139	0,88	146	8,3	7 700,0
<i>o</i> -Xylen	106,16	144	0,88	175	6,6	5 100,0
<i>p</i> -Xylen	106,16	138	0,86	156	8,7	7 700,0

^a Měřeno při 20 °C, ostatní při 25 °C, t_v – teplota varu, M_r – relativní molekulová hmotnost, ρ – hustota, MTBE – *tert*-butyl(methyl) ether, TBA – *tert*-butylalkohol, ETBE – *tert*-butyl(ethyl)ether, TAME – *tert*-amyl(methyl)ether, DIPE – diisopropylether

a doplnění recirkulace alkoholu, umožňují zlepšit provozní výsledky existujících jednotek pro výrobu ETBE. Česká rafinérská a.s. již dvakrát takto realizovala výrobu ETBE. K tomuto účelu bylo zpracováno 1500 t bioethanolu¹¹. Výchozí surovina pro výrobu ETBE by tedy pocházela z obnovitelných zdrojů (např. zemědělské suroviny), zatímco methanol pro výrobu MTBE je nyní získáván převážně ze zemního plynu.

Další výhodou ETBE spočívá v jeho fyzikálně-chemických vlastnostech (tab. I), jelikož má vyšší bod varu a nižší tlak par než MTBE. To je významné z hlediska zpříšňujících se limitů na těkavost automobilových benzínů, především v letním období¹¹.

Někteří autoři se domnívají, že ETBE je méně nebezpečný pro životní prostředí než MTBE a to vzhledem k jeho menší rozpustnosti ve vodě (viz tab. I) a pravděpodobně rychlejší biologické degradaci oproti MTBE. Zde je však nutno podotknout, že studiu degradace ETBE zatím nebyla věnována taková pozornost jako MTBE.

Existují ale i nevýhody, které zatím omezující použití ETBE v ČR v porovnání s MTBE. Jednou z nich je vysoká nákupní cena bezvodého ethanolu, jelikož jeho produkce není ještě dostatečně rozšířená. Zpracování kvasného ethanolu v rafinérii by tak bylo možné pouze za cenu finanční podpory státu (dotace, úprava spotřební daně), která by stlačila cenu ethanolu na cenu methanolu, jež je podstatně nižší. Požadavek na co nejnižší obsah vody v ethanolu je kladen hlavně pro ochranu automobilových katalyzátorů, jelikož vyšší obsah vody a dusíkatých látek způsobuje

jejich rychlejší stárnutí. Další finanční zátěž spočívá také v tom, že se zavedením výroby ETBE je obvykle spojena výstavba nového lihovaru, jako je tomu např. ve Španělsku a Francii¹². Poslední větší nedostatek je spatřován v přítomnosti ethanolu v ETBE ve vyšší koncentraci než je methanol v MTBE, to může být zdrojem problémů typických pro směsi benzínu a ethanolu¹¹.

3. Toxicita ETBE

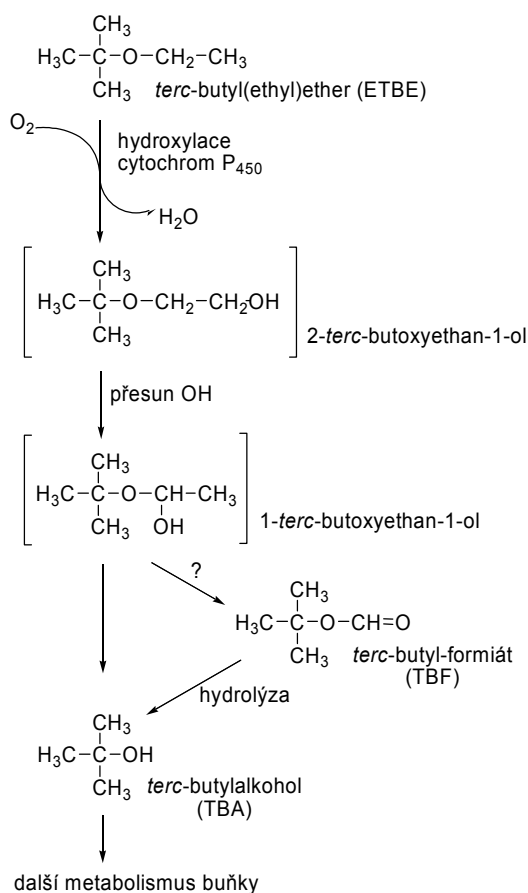
MTBE již byl zařazen mezi sledované látky a potenciální lidské karcinogeny¹³. ETBE má podobné vlastnosti v nezřetěleném stavu jako MTBE: charakteristický etherový zápach a chuť, dráždí oči, kůže, při inhalaci dráždí sliznice, působí na centrální nervovou soustavu, může způsobovat depresi. Dlouhodobější studie na zvířatech a lidech zatím nebyly prováděny, zatím byly uskutečněny krátkodobé experimenty pro případ, že se ETBE v automobilovém průmyslu uplatní. V těchto studiích byly inhalačně podávány nízké koncentrace ETBE lidem (ženám a mužům) a krysám (samičkám a samcům).

V prvním experimentu byl podáván ETBE v koncentraci 4 a 40 ppm 3 ženám, 3 mužům, 10 samičkám a 10 samcům po dobu 72 hodin v šestihodinových intervalech. V odebraných vzorcích moče byly identifikovány tyto látky: ETBE, *tert*-butylalkohol (TBA), 2-methylpropan-1,2-diol a 2-hydroxyisobutyryát, ve vzorcích krve byly nalezeny pouze ETBE a TBA. Ve vzorcích krve ode-

braných po 48 hodinách od první expozice 40 ppm byl detegován ETBE v koncentraci $5,3 \pm 1,2 \mu\text{mol l}^{-1}$ u kryš a $12,1 \pm 4,0 \mu\text{mol l}^{-1}$ u lidí. Po ukončení experimentu byl ETBE z krve i z moči velmi rychle vyloučen u obou skupin. V tomto experimentu bylo zajímavé zjištění, že ETBE byl rychleji biotransformován u kryš než u lidí¹⁴.

V další práci byl ETBE opět inhalačně podáván kryšám Fischer-344 a myším CD-1 (imbrední kmény) po dobu 6 až 12 týdnů v koncentračním rozpětí 0–5000 ppm. Po ukončení experimentu nebyly zaznamenány žádné významné patologické změny, ale u obou testovacích skupin byla pozorována narůstající hmotnost jater se zvyšující se dávkou ETBE a u samic ještě zvětšení ledvin, nadledvinek a srdce¹⁵.

I když u standardních testů genotoxicity nebyl pozorován negativní účinek ETBE a jeho metabolitu TBA na testovaný organismus, z předcházející studie vyplývá fakt, že se zvyšující podávanou koncentrací ETBE se objevují zdravotní problémy. Ty sice nevedly u studovaného organismu ke smrti, ale přesto jejich existence musí být brány v úvahu při manipulaci s touto látkou.



Obr. 1. Návrh metabolické dráhy ETBE u kmenů E1 a E2 (cit.²⁰)

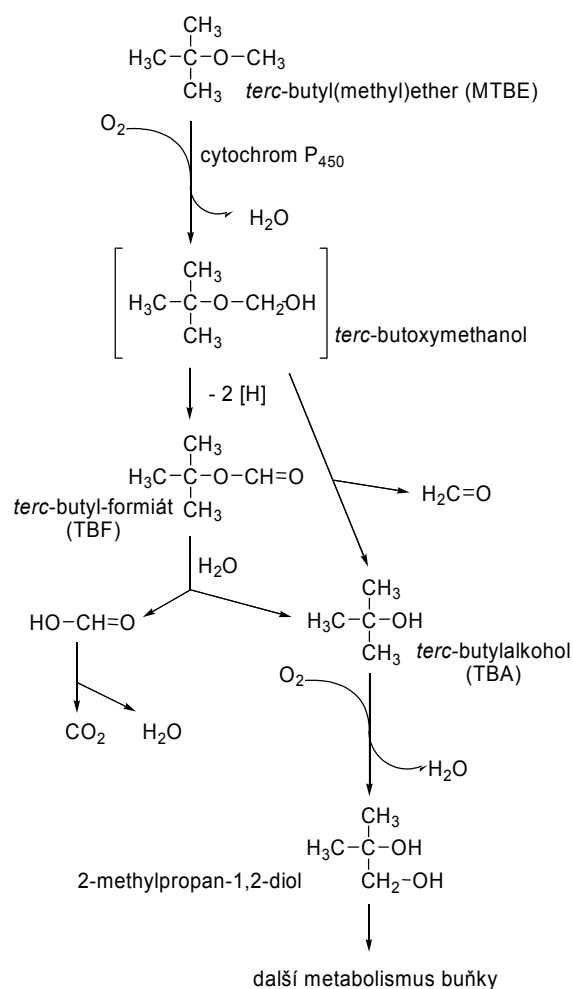
4. Pravděpodobnost biodegradace ETBE po úniku do životního prostředí

Studium degradace ETBE doposud neprobíhalo tak intenzivně jako u MTBE, přesto dosavadní výsledky naznačují, že etherová vazba v této sloučenině je snáze štěpitelná oproti MTBE. Aerobní degradace ETBE byla poprvé prokázána v roce 1997 Steffanem a jeho pracovním kolektivem pomocí mikrobiální kultury primárně využívající propan¹⁶. O rok později byly ve Francii izolovány z aktivovaného kalu další bakteriální kmény schopné štěpit ETBE tentokrát jako hlavní zdroj uhlíku a energie¹⁷. Tyto kmény byly charakterizovány jako *Rhodococcus ruber* IPF 2001 a *Rhodococcus zopfii* IPF 2002 a později byl u nich popsán iniciační krok při degradaci ETBE. Mezi další mikroorganismy schopné využít ETBE patří *Gordonia terrae*, *Rhodococcus equi*¹⁸, *Mycobacterium vaccae* JOB5 (cit.¹⁹), *Comamonas testosteroni* E1, blíže neurčený půdní mikrobiální izolát E2 (cit.²⁰) a konsorcium (směs mikroorganismů žijících v dané lokalitě) izolované z půdy kontaminované benzinem²¹. U kmenů E1 a E2 byla podrobněji studována degradační dráha ETBE izolací a analýzou meziproductů v různém čase. Na základě prokázaných intermediátů byla navržena degradační dráha ETBE, která je zobrazena na obr. 1 (cit.²⁰).

První stupeň při biodegradaci ETBE je stejný jako u MTBE, účastní se ho pravděpodobně enzym (monooxygenasa cytochrom P₄₅₀), který oxiduje ETBE na 2-*tert*-butoxyethan-1-ol a MTBE na *tert*-butoxymethanol. Poté je průběh metabolismu u obou sloučenin odlišný. U 2-*tert*-butoxyethan-1-olu v degradační dráze ETBE dochází k přesunu hydroxyly za vzniku 1-*tert*-butoxyethan-1-olu, který je dále buď přímo štěpen na acetaldehyd a TBA nebo je demetylován na *tert*-butylformiát (TBF), který je posléze hydrolyzován za vzniku kyseliny mravenčí a TBA. *tert*-Butoxymethanol v degradační dráze MTBE (obr. 2) může být buď dehydrogenován na TBF, který je poté štěpen na kyselinu mravenčí a TBA, nebo je přímo štěpen na formaldehyd a TBA. TBA tedy tvoří společný stabilní meziproduct při štěpení obou látek (ETBE a MTBE). U MTBE však může tvořit také u některých mikroorganismů konečný produkt, který není dále oxidován a kumuluje se v kulturačním médiu. Ačkoliv jsou si degradační dráhy obou sloučenin velmi podobné, rozdíl spočívá v iniciačním kroku. MTBE svou strukturou oproti ETBE tvoří velmi obtížně přístupný substrát, tudíž právě etherová vazba, kterou je u MTBE vázán *tert*-butyl ze strany jedné a methylová skupina ze strany druhé, způsobuje velkou odolnost vůči bakteriálnímu štěpení^{20,22}.

Princip štěpení etherové vazby u ETBE

Sloučeniny obsahující ve své struktuře etherovou vazbu se v přírodě běžně nacházejí, jmenujme např. lignin. Existence těchto přírodních látek je velmi důležitá skutečnost při hledání mikroorganismů schopných degradovat polutanty s etherovou vazbou. V mnoha publikacích byl popsán biochemický mechanismus štěpení etherové vazby



Obr. 2. Návrh metabolické dráhy MTBE u kmenů degradujících MTBE za aerobních podmínek (cit.²⁰)

u různých průmyslově vyráběných sloučenin, které v dnešní době kontaminují životní prostředí²³. Podobně je tomu tak i u ETBE, u kterého se již také podařilo izolovat a charakterizovat enzymy zapojené do iniciace degradace

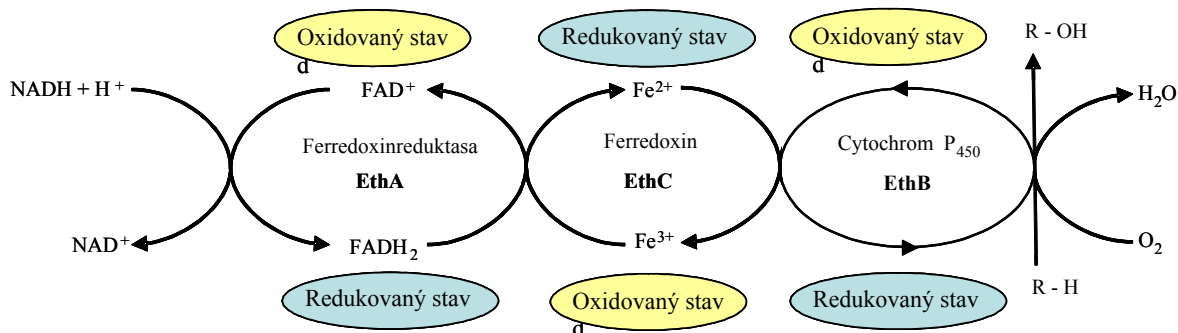
bakteriálním kmenem *Rhodococcus ruber* IPF 2001, zatímco na objasnění mechanismu štěpení MTBE se stále ještě pracuje. Pochopení a možnost aplikace vhodného biologického systému při čištění kontaminovaného prostředí opět zvýhodňuje použití ETBE místo MTBE jako benzinového aditiva.

Biochemický mechanismus počátečního kroku při biodegradaci ETBE byl popsán u kmene *Rhodococcus ruber* IPF 2001, který je schopen využít ETBE jako zdroj uhlíku a energie¹⁷. Ke štěpení etherové vazby dochází pomocí enzymu monoxygenasy za vzniku hemiacetalu, který se poté spontánně rozpadá na *tert*-butylalkohol (TBA) a acetaldehyd. U izolátu *Rhodococcus ruber* IPF 2001 se podařilo izolovat a charakterizovat skupinu enzymů (*ethRABCD*) účastnící se tohoto kroku. Pro ověření jejich aktivity byly geny tohoto komplexu klonovány do mutantu *Rhodococcus ruber* bez schopnosti degradovat ETBE a zároveň byla studována jejich struktura²³.

Ačkoliv je komplex genů *ethRABCD* u izolátu *Rhodococcus ruber* IPF 2001 umístěn na chromosomu, není fenotypově stabilní, což se projevilo u klonů kultivovaných na čistém nutričně bohatém médiu, jejichž 60. generace nebyla schopna po převedení do minerálního média (médium obsahující pouze základní anorganické soli důležité pro růst mikroorganismů) s přítomností ETBE využít samotné ETBE. Tím je vysvětlena skutečnost, že pokud kmen *Rhodococcus ruber* IPF 2001 není kultivován v přítomnosti ETBE, s vysokou frekvencí ztrácí schopnost štěpit ETBE i po následném přidavku ETBE do média. Celý komplex *ethRABCD* je tvořen pěti geny (*ethR*, *ethA*, *ethB*, *ethC* a *ethD*), jejichž exprese vznikají enzymy *ethR*, *ethA*, *ethB*, *ethC* a *ethD*. Funkce těchto enzymů je popsána dále.

Enzym *ethA* tvořený 142 aminokyselinami byl identifikován jako ferredoxinreduktasa. Obsahuje dvě vazebná místa tvořená supersekundární strukturou $\beta\alpha\beta$ pro ADP, přičemž vazebné místo uložené na *N*-konci může zároveň sloužit jako vazebné místo pro kofaktor FAD a druhé centrální vazebné místo pro kofaktor NAD^+ .

Enzym *ethB* tvořený 400 aminokyselinami svou strukturou odpovídá enzymu cytochromu P_{450} , což kromě jiného potvrzuje vazba cysteinu v pozici 349, která je konzervativní pro všechny cytochromy P_{450} . Tvorba tohoto enzymu je indukována přítomností ETBE a katalyzuje jeho



Obr. 3. Oxidace ETBE enzymovým komplexem *ethABC*; tok elektronů je zajištěn pomocí ferredoxinreduktasy (*ethA*), ferredoxinem (*ethC*) a cytochromem P_{450} (*ethB*)

oxidaci.

Enzym ethC tvořený 106 aminokyselinami byl zařazen mezi ferredoxiny [2Fe-2S] a slouží jako přenašeč elektronů mezi NADH-dependentní ferredoxinreduktasou (ethA) a cytochromem P₄₅₀ (ethB).

Enzym ethD složený z 103 aminokyselin je opět indukován přítomností ETBE a jeho funkce zatím není objasněna.

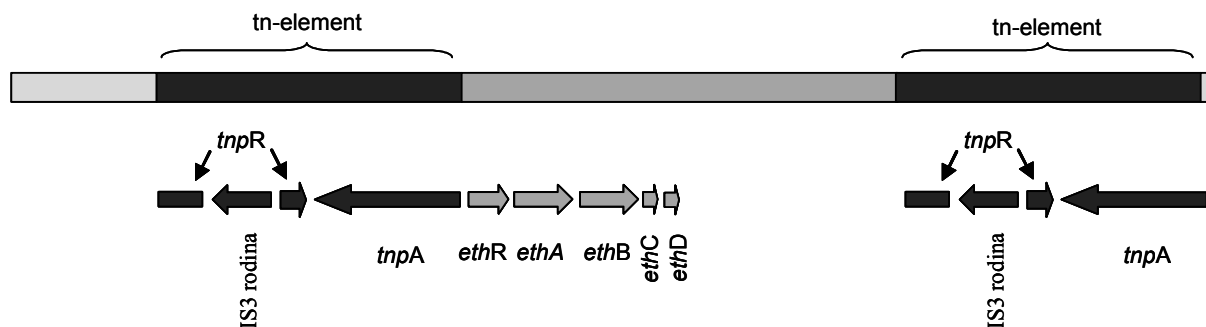
Enzym ethR tvořený 331 aminokyselinami byl zařazen mezi enzymy patřící do AraC/XylS třídy, které slouží jako pozitivní regulátory transkripce. Vazebné místo pro DNA je konzervativně uloženo mezi 250. a 325. aminokyselinou na C-konci jako u ostatních enzymů z AraC/XylS třídy.

Enzymový komplex ethABC vytváří krátký elektronový transportní systém, kde ferredoxinreduktasa (ethA) přijímá elektrony z NADH, přenáší je na ferredoxin (ethC), ten poté na cytochrom P₄₅₀ (ethB), který katalyzuje oxygenaci ETBE na *terc*-butoxymethanol. Celý tento systém je regulován proteinem ethR, podobný význam bude mít pravděpodobně i ethD. Průběh přenosu elektronů je zobrazen na obr. 3.

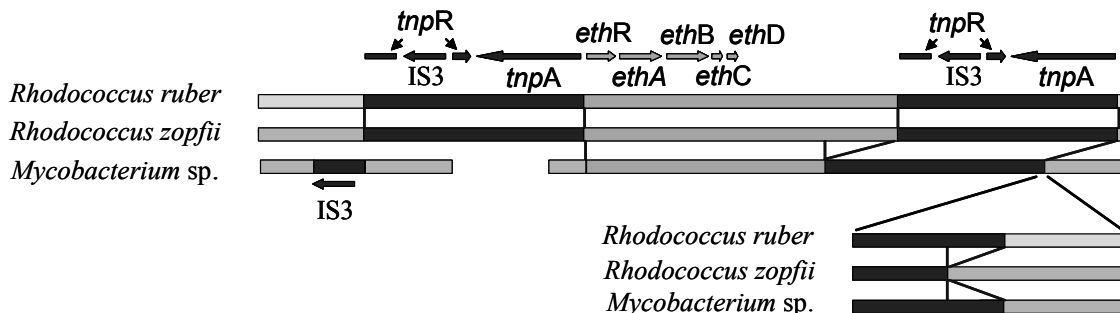
Celý komplex genů *ethRABCD* je ohraničen dvěma zcela identickými sekvencemi o velikosti 5600 párů bází (bp), první je uložena 880 bp před *ethR* a druhá se nachází

3908 bp za *ethD*. Tyto sekvence jsou tvořeny tzv. tn-elementy, které nesou genetickou informaci o transpozonu a další znaky buněčného fenotypu. Skládají se z genů *tnpA* a *tnpR*, které kódují enzymy transponasu odpovídající za transpozici a rezolvasu sloužící jako regulační bílkovina syntézy transponasy a rezolvasy. *TnpR* je navíc rozdělen tzv. IS3 rodinou, která pravděpodobně zajišťuje, že genetická informace tohoto transpononu se výhradně týká vlastní transpozice (obr. 4). Výskyt této sekvence tn-elementů nebyl prokázán na jiném místě v genomu *Rhodococcus ruber* IPF 2001 a tudíž pravděpodobně souvisejí s funkcí genů *ethRABCD*.

Podobné uspořádání komplexu *ethRABCD* s tn-elementy bylo identifikováno u dalších kmenů schopných využít ETBE, *Rhodococcus zopfii* IPF 2005 a *Mycobacterium* sp. IFP 2009 (obr. 5)^{23,24}. Tyto kmene byly izolovány ze stejného prostředí jako *Rhodococcus ruber* IPF 2001. Kmen *Rhodococcus zopfii* IPF 2005 vykazoval 100% identitu v uspořádání komplexu *ethRABCD* a tn-elementy s kmenem *Rhodococcus ruber* IPF 2001, což ukazuje, že tyto geny jsou konzervativní. Ovšem 3'-konec transpononu uložený za *ethD* je o 117 nukleotidů kratší. U kmene *Mycobacterium* sp. IFP 2009 byla zachována struktura a uspořádání komplexu *ethRABCD*, ale u tn-elementu uloženého před *ethR* chyběly geny pro *tnpR*



Obr. 4. Struktura lokusu genu *ethRABCD* a sousedních genů u kmene *Rhodococcus ruber* IPF 2001; *ethR* – gen pro syntézu regulační bílkoviny, *ethA* – ferredoxinreduktasa, *ethB* – cytochrom P₄₅₀, *ethC* – ferredoxin, *ethD* – bílkovina, jejíž funkce je zatím neznámá, tn-element – jednotka kódující transpozon, *tnpR* – rezolvasa, *tnpA* – transponasa, IS3 rodina – součást tn-elementu



Obr. 5. Porovnání struktury lokusu genu *ethRABCD* a tn-elementů u bakteriálních izolátů schopných využít ETBE: *Rhodococcus ruber* IPF 2001, *Rhodococcus zopfii* IPF 2005 a *Mycobacterium* sp. IFP 2009 (cit.²⁴)

a *tnpA* a *tn*-element umístěný za *ethD* byl uložen v pozici 2771 bp. Přítomnost vysoce konzervativního komplexu genů *ethRABCD* u *Rhodococcus ruber* IPF 2001, *Rhodococcus zopfii* IPF 2005 a *Mycobacterium* sp. IFP 2009 naznačuje, že u tohoto lokusu genu může nastat mezidruhový genový transfer.

5. Závěr

Vývoj ekologičtějších paliv je vzhledem k neustále se rozvíjející dopravě nezbytný. Přídavek vhodného aditiva je jednou z mnoha možností, které kvalitu pohonných hmot mohou výrazně zlepšit. Dosud nejvíce používaným aditivem je MTBE. V České republice se zatím oproti ostatním zemím používajících MTBE nevyskytl závažný zdravotní problém spojený s touto látkou, ale je pravda, že i u nás nastaly problémy s jejím odstraněním z kontaminované lokality (např. po úniku benzínu v r. 2001, cit.²⁶). Náhrada MTBE za ETBE se zdá být z dosud publikovaných informací jako pozitivní krok. Velký přínos spočívá i v možnosti výroby ETBE z obnovitelných zdrojů (bioethanol) a rychlejší biodegradace případného kontaminovaného prostředí. Zatím jedinou nezodpovězenou, ale ne zanedbatelnou otázkou je účinek ETBE na lidské zdraví. Ojedinelé studie zatím neprokázaly negativní účinky na lidský organismus, ale již fakt, že vyloučení této látky z lidského organismu je pomalejší než z krysího, ukazuje, že by se studie toxicity této látky mělo věnovat více pozornosti.

LITERATURA

- Iacocca V., Freeman N. C. J., Fagliano J., Liou P. J.: *Atmos. Environ.* 37, 2379 (2003).
- Phelps C. D., Young L.Y.: *Biodegradation* 10, 15 (1999).
- Fernandez L., Keller A. A.: *Environ. Sci. Policy* 3, 173 (2000).
- Piveteau P., Fayolle F., Vandecasteele J.-P., Monot F.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 55, 369 (2001).
- U.S. Environmental Protection Agency: Office of Water 4304, EPA-822-F-97-009 (U.S. EPA 1997).
- Johnson E. L., Smith C. A., O'Reilly K. T., Hyman M. R.: *Appl. Environ. Microbiol.* 70 (2), 1023 (2004).
- Hakkola M., Honkasalo M. L., Pulkkinen P.: *Occup. Environ. Med.* 46, 125 (1996).
- Borak J., Pastides H., Van Ert M., Russi M., Herzstein J.: *Human Ecol. Risk Assessment* 4, 177 (1998).
- Fiedler N., Kelly-McNeil K., Mohr S., Lehrer P., Opiekun R. E., Lee C., Wainman T., Hamer R., Weisel C., Edelberg R., Liou P. J.: *Environ. Health Perspect.* 108 (8), 753 (2000).
- Ahmed F. E.: *Toxicol. Lett.* 123 (2-3), 89 (2001).
- Kittel H.: *Mezinárodní konference Motorová paliva 2002, Vyhne, SR 17.-20.6.2002.*
- http://www.dpmmc.gov.au/biofuels/report/chapter_4.doc, (staženo 20.10.2006).
- Vosahlíková M., Cajthaml T., Demnerová K., Pazlarová J.: *Environ. Toxicol.* 21, 599 (2006).
- Amberg A., Rosner E., Dekant W.: *Toxicol. Sci.* 53, 194 (2000).
- Medinsky M. A., Wolf D. C., Cattley R. C., Wong B., Janszen D. B., Farris G. M., Wright G. A., Bond J. A.: *Toxicol. Sci.* 51, 108 (1999).
- Steffan R. J., McClay K. T., Vainerg S., Condee C. W., Zhang D.: *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 4216 (1997).
- Fayolle F., Hernandez G., Le Roux F., Vandecasteele J.-P.: *Biotechnol. Lett.* 20, 283 (1998).
- Hernandez-Perez G., Fayolle F., Vandecasteele J.-P.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 55, 117 (2001).
- Smith C. A., O'Reilly K. T., Hyman M. R.: *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 796 (2003).
- Kharoune M., Kharoune L., Lebeault J. M., Paus A.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 55, 348 (2001).
- Kharoune M., Kharoune L., Lebeault J. M., Paus A.: *Environ. Toxicol. Chem.* 21, 2052 (2002).
- Ferreira N. L., Malandain C., Fayoll-Guichard F.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 72, 252 (2006).
- Fayolle F., Vandecasteele J.-P., Monot F.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56, 339 (2001).
- Chauvaux S., Chevalier F., le Dantec C., Fayolle F., Mirax I., Kunst F., Béguin P.: *J. Bacteriol.* 183, 6551 (2001).
- Béguin P., Chauvaux S., Miras I., François A., Fayolle F., Monot F.: *Oil Gas Sci. Technol. – Rev. IFP* 58, 489 (2003).
- http://www.enviweb.cz/?env=voda_archiv_gaedi_it (staženo 20.10.2006).

M. Vošahlíková, K. Demnerová, and J. Pazlarová
(*Department of Biochemistry and Microbiology, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Possible Benefits of Replacing Methyl *tert*-Butyl Ether with Ethyl *tert*-Butyl Ether**

This report briefly informs about advantages and disadvantages of ethyl *tert*-butyl ether (ETBE) as an additive to gasoline and about its biodegradability. This compound could substitute the most used *tert*-butyl methyl ether (MTBE), which has been repeatedly detected as a contaminant in groundwater, drinking water, rivers, air and snow. ETBE has similar properties to MTBE, but its manufacture is more expensive than that of MTBE. The main advantage of ETBE is its easier biodegradability compared with MTBE. The use of ETBE seems to involve no health risk; however, its properties and environmental consequences of its use must be checked.

BIOETANOL: SÚČASNÉ TRENDY VO VÝSKUME A V PRAXI

MARTIN ŠULÁK a DANIELA ŠMOGROVIČOVÁ

Oddelenie biochemickej technológie Ústav biotechnológie a potravinárstva, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava 1, Slovenská republika

martin.sulak@stuba.sk, daniela.smogrovicova@stuba.sk

Došlo 2.4.07, prepracované 9.7.07, prijaté 18.7.07.

Kľúčové slová: etanol, kvasinky, baktérie, biomasa

Obsah

1. Úvod
2. Produkčné mikroorganizmy
 - 2.1. Baktérie
 - 2.2. Kvasinky
3. Substráty
 - 3.1. Substráty s vysokým obsahom škrobu
 - 3.2. Substráty s vysokým obsahom sacharózy
 - 3.3. Lignocelulózové materiály
4. Záver

1. Úvod

Etanol je produktom mikrobiálnej fermentácie, ktorý ľudstvo sprevádza už tisícky rokov. Okrem tradičného využitia v priemysle výroby alkoholických nápojov sa etanol stáva najrýchlejšie rastúcim energetickým zdrojom súčasnosti¹. Jedným z dôvodov je jednoduchý fakt, že zdroje konvenčných palív sú vyčerpatelné a predpokladá sa, že v priebehu nasledujúcich rokov dôjde k stonásobnému nárastu spotreby kvapalných palív². Tento nárast nebude ropný priemysel schopný pokryť a hoci je pri súčasnej spotrebe ropy nereálna čo len predstava, že by tieto zdroje boli nahradené v tak krátkom čase iným palivom, je potrebné čo najskôr začať s masovou produkciou náhradných palív³. Jedným z týchto palív je aj bioetanol, čiže etanol produkovaný z biomasy a používaný ako biopalivo⁴. Biomasa je na rozdiel od konvenčných zdrojov fosílnych palív, zdroj obnoviteľný, a teda teoreticky nevyčerpatelný. Okrem toho, použitie palív na báze obnoviteľných zdrojov nemá negatívny vplyv na bilanciu oxidu uhličitého v atmosfére. Tento faktor nadobúda čím ďalej, tým väčšiu dôležitosť, pretože neustále stúpajúce množstvo emisií oxidu uhličitého, z pohľadu množstva najdôležitejšieho skleníkového plynu, vedú ku globálnemu otepľovaniu, ktoré sa práve v tomto čase stáva predmetom

záujmu už aj širokej verejnosti pre badateľné klimatické zmeny. Prechod z konvenčných na obnoviteľné zdroje energie je nevyhnutnosťou pre trvalo udržateľný rozvoj na Zemi.

Smernica Európskeho parlamentu a Rady č. 2003/20/ES (cit.⁴) z 8. mája 2003 o podpore používania biopalív alebo iných obnoviteľných zdrojov v doprave, stanovuje referenčnú hodnotu minimálneho trhového podielu biopalív na 2 % do 31. decembra 2005 a 5,75 % do 31. decembra 2010. Prvý cieľ nebol v rámci krajín Európskej únie splnený (priemerne 1,4 %), dosiahnutie druhého je zatiaľ otáznave. Jedným z biopalív uvedených v tejto smernici je práve bioetanol a v záujme splnenia záväzkov by mala jeho produkcia v najbližších rokoch aj v Slovenskej a Českej republike prudko stúpať. Pre tunajší liehovarský priemysel to znamená nové príležitosti, no súčasne bude potrebné zabezpečiť nevyhnutnú rekonštrukciu jestvujúcich zariadení a inováciu technológií, resp. nákup nových.

Hoci je bioetanol jednoznačným prínosom pre trvalo udržateľný rozvoj, zrejme nie je konečným riešením, pretože podľa kritických štúdií je výroba bioetanolu zo škrobnatých substrátov v súčasnosti energeticky nevýhodná a výroba je možná len na základe daňových úľav a štátnych dotácií. Ani kapacita zdrojov biomasy pre nahradenie fosílnych palív nie je dostatočná. Napr. USA v roku 2005 vyrobili 17 mil. m³ bioetanolu z kukurice, čo predstavuje len 1 % spotreby pohonných hmôt. Na výrobu tohto množstva bioetanolu však bolo spotrebované množstvo kukurice, ktoré bolo vypestované na 18 % celkovej plochy osiatej kukuricou v USA (cit.³). Súčasným trendom je produkcia bioetanolu z lignocelulózových hydrolyzátov a aj keď je ich spracovanie zatiaľ energeticky veľmi náročné, intenzívny výskum a vývoj v tejto oblasti smeruje k zníženiu ekonomickej náročnosti a zvýšeniu efektivity tohto procesu.

2. Produkčné mikroorganizmy

Jedným z tradičných dôvodov, ktoré sa uvádzajú ako prekážka v rozvoji priemyselnej výroby bioetanolu, je nedostatok vhodných produkčných mikroorganizmov na konverziu biomasy na palivový etanol. Nedostatok mikroorganizmov súvisí s ekonomicky efektívnym využitím potenciálnych substrátov⁵. V súčasnosti sa bioetanol produkuje najmä zo škrobnatých substrátov a substrátov s vysokým obsahom sacharózy, kým výhľadovo je predmetom záujmu konverzia lignocelulózových materiálov a najmä D-xylózy⁶. Žiaľ, žiadny mikroorganizmus voľne sa vyskytujúci v prírode nie je schopný efektívne fermentovať zmes hexózy a pentózy na etanol. Preto sa metódami génového inžinierstva pripravujú rekombinanty schopné

efektívne konvertovať lignocelulóзовé hydrolyzáty na etanol. V zásade sú možné dve cesty, a to vloženie génov pre konverziu pentóz do natívneho hexózy fermentujúceho mikroorganizmu, ako je napr. *Zymomonas mobilis* alebo *Saccharomyces cerevisiae*. Druhou možnosťou je naopak vnášanie génov pre produkciu etanolu do organizmov schopných konvertovať široké spektrum sacharidov, napr. *Klebsiella oxytoca*, *Erwinia chrysanthemi* alebo *Escherichia coli*². Pre špecifické vlastnosti a rôzne výhody jednotlivých typov mikroorganizmov prebieha intenzívny výskum v oblasti prípravy vhodných rekombinantných kmeňov nielen kvasiniek, ale aj baktérií⁷. Doposiaľ však nie je známe, či niektorý producent bude z ekonomického hľadiska natoľko zaujímavý, že zaujme miesto preferovaného produkčného mikroorganizmu v technológii výroby palivového etanolu z lignocelulóзовých hydrolyzáto. Asi viac pravdepodobným variantom bude nasadenie rôznych mikrobiálnych producentov „šitých na mieru“ podľa charakteru konkrétnej prevádzky.

Tradičným mikroorganizmom liehovarského priemyslu je kvasinka *Saccharomyces cerevisiae*. Experimenty s využitím baktérií ako napr. *Zymomonas mobilis* v potravinárskom priemysle neboli úspešné z dôvodu prítomnosti nežiaducich sírnych a hnilobných pachov a príchuť v konečných produktoch. Je však zaujímavé, že sa práve táto baktéria popri iných baktériách rodu *Lactobacillus* a *Leuconostoc* spolu s kvasinkou *Saccharomyces cerevisiae* podieľa na vzniku „pulque“ – tradičného mexického alkoholického nápoja pripravovaného fermentáciou agávovej šťavy. S rozmachom produkcie palivového etanolu však došlo k zvýšeniu popularity bakteriálnych producentov a k zintenzívneniu výskumu v tejto oblasti¹.

2.1. Baktérie

Baktérie majú oproti kvasinkám niektoré nesporné výhody. Ako prokaryotické organizmy sú podstatne menšie a nemajú diferencované organely. Rastú preto rýchlejšie a majú menšiu spotrebu živých látok na produkciu vlastnej biomasy, rýchlosť produkcie etanolu aj jeho výťažnosť je v porovnaní s kvasinkami vyššia. Výťažnosť etanolu Y_{EtOH} je definovaná takto: $Y_{EtOH} = (E_k - E_0) / (S_0 - S_k)$, pričom E_k a E_0 je koncentrácia etanolu na konci, resp. na začiatku fermentácie a S_0 a S_k je koncentrácia substrátu na začiatku, resp. na konci fermentácie. Napr. baktéria *Zymomonas mobilis* vykazuje troj- až päťnásobne vyššiu rýchlosť produkcie etanolu a výťažnosť až 97 % teoretického maxima vychádzajúceho zo stechiometrie reakcie oproti *Saccharomyces cerevisiae* s výťažnosťou 90–92 % (cit.¹). Na druhej strane však majú baktérie výrazne nižšiu toleranciu voči etanolu, kyselinám a ostatným inhibítorm, a preto je ťažšie uchrániť systém od kontaminácie ako pri použití kvasiniek. Ďalšou hrozbou pre prevádzky využívajúce baktérie sú bakteriofágy⁸.

Esenciálnym faktorom pre produkciu etanolu je prítomnosť pyruvátdekarboxylázy (EC 4.1.1.1) – enzýmu, ktorý katalyzuje neoxidatívnu dekarboxyláciu pyruvátu na acetaldehyd, pričom sa uvoľňuje oxid uhličitý

a alkoholdehydrogenázy (EC 1.1.1.1), ktorá katalyzuje redukciu acetaldehydu na etanol. Pyruvátdekarboxyláza z rôznych organizmov má rôzne kinetické vlastnosti, termálnu stabilitu, a teda aj inú pôvodnú sekvenciu DNA⁹. Medzi baktérie produkujúce etanol, ktoré majú vlastnú pyruvátdekarboxylázu a alkoholdehydrogenázu patrí *Zymomonas mobilis*. Pre potenciálne využitie v priemysle biopalív sa ukazujú ako sľubné aj ďalšie gramnegatívne baktérie: *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* a niektoré druhy rodu *Erwinia*, ktoré majú prirodzenú schopnosť využívať široké spektrum sacharidov, no nemajú vlastné enzýmy pre biosyntézu etanolu. Produkčné kmene týchto druhov sa pripravujú metódami génového inžinierstva vložением tzv. PET (portable ethanol production cassette) operónu¹⁰. Počíta sa aj s využitím termofilných baktérií, no momentálne je metabolické inžinierstvo v tejto oblasti ešte len v začiatkoch a s väčším rozvojom sa počíta až v budúcnosti⁵. Medzi prvé úspešné experimenty v tejto oblasti patrí príprava rekombinantného kmeňa druhu *Bacillus megaterium*, pričom bol obohatený o gény kódujúce pyruvátdekarboxylázu z baktérie *Sarcina ventriculi* a alkoholdehydrogenázu z *Geobacillus stearothermophilus*⁹. Ďalším z potenciálne perspektívnych bakteriálnych producentov etanolu, ktorý je predmetom súčasného výskumu, je aj obligátne anaeróbna baktéria *Thermoanaerobacterium saccharolyticum*, ktorú sa metódami génového inžinierstva podarilo upraviť na efektívny etanol produkujúci mikroorganizmus¹¹.

Zymomonas mobilis je fakultatívne anaeróbna gramnegatívna palička, popísaná mikrobiológom Lindnerom v roku 1928 (preto je známa aj pod názvom *Zymomonas lindneri* resp. *Pseudomonas lindneri*). Vyznačuje sa medzi baktériami dosť unikátnou vlastnosťou, ktorou je tolerancia relatívne vysokých koncentrácií etanolu. Na rozdiel od kvasiniek však *Zymomonas mobilis* konvertuje glukózu na etanol Entner-Doudoroffovou metabolickou dráhou. Vzhľadom na energetický výťažok len 1 mol ATP z jedného molu glukózy z tejto metabolickej dráhy, je nárast bunkovej hmoty malý a produkčná rýchlosť vysoká. Z toho vyplýva vysoká výťažnosť etanolu¹. Prekážkou širšieho rozšírenia tejto baktérie najmä pre výrobu bioetanolu z biomasy je výrazne obmedzené spektrum fermentovateľných sacharidov. *Zymomonas mobilis* skvasuje len glukózu, fruktózu a sacharózu. Pri fermentácii sacharózy sa však môže fruktóza hromadiť v médiu alebo dochádza k tvorbe levánu, čo vedie k zníženiu výťažnosti etanolu. Boli pripravené rekombinanty s vloženými génmi pre konverziu xylózy z *Escherichia coli* (1995), no efektívnosť tejto konverzie sa doposiaľ nepodarilo zvýšiť na úroveň, ktorá by bola z ekonomického hľadiska akceptovateľná¹¹. *Zymomonas mobilis* vstupuje na súčasnú scénu priemyselnej výroby etanolu spolu so zverejnením kompletne osekvenovaného genómu (2 056 416 bp). Genóm *Zymomonas mobilis* priniesol vysvetlenie mnohých vlastností, ktoré táto baktéria vykazuje. Neprítomnosť väčšiny enzýmov pentóza-fosfátového cyklu, 6-fosfofruktokinázy (EC 2.7.1.11) a ďalších dvoch enzýmov cyklu trikarboxylových kyselín síce nezasahuje do biosyntézy aminokyselín, no výrazne

limituje využívanie iných sacharidov a získavanie energie respiráciou¹². Tieto poznatky vytvárajú nové možnosti pre génových inžinierov na prípravu kmeňov, ktoré budú schopné okrem glukózy dostatočne efektívne fermentovať aj D-xylózu (ďalej len xylóza) a L-arabínózu (ďalej len arabínóza) prítomnú v lignocelulóзовých hydrolyzátach, ktoré majú veľký potenciál pre využitie v priemysle výroby bioetanolu v blízkej budúcnosti.

Escherichia coli je fakultatívne anaeróbná gramnegatívna paličkovitá baktéria tvoriaca čiastočne kokoidné paličky a systematicky je zaradená do čeľade *Enterobacteriaceae*. Prirodzene sa vyskytuje v ľudskom a zvieracom tráviacom trakte. Sekundárne sa nachádza aj vo vonkajšom prostredí, pričom sa využíva ako indikátor fekálneho znečistenia. Väčšinou sa správa saprofyticko, no je potenciálnym patogénom spôsobujúcim črevné ochorenia najmä u ľudí s oslabenou imunitou¹³. Vzhľadom na to, že *Escherichia coli* nie je obligátnou etanol produkujúcou baktériou, bolo potrebné tieto vlastnosti dodať metódami génového inžinierstva. Prvé rekombinantné kmene *Escherichia coli* boli pripravené už v osemdesiatych rokoch minulého storočia. Napr. v roku 1987 pripravili Ingram a spol.¹⁴ rekombinantný kmeň *Escherichia coli* vnesením PET operónu s génmi pyruvátdekarboxylázy (EC 4.1.1.1) s veľkosťou 1,7 kbp a génom alkoholdehydrogenázy II (EC 1.1.1.1) – 1,1 kbp z baktérie *Zymomonas mobilis*. Tieto prvé kmene však mali nízku efektívnosť konverzie a navyše neboli geneticky stabilné, pretože bunky sa inkorporovaného plazmidu zbavovali a s ním strácali aj želané vlastnosti. V roku 1991 bol pripravený kmeň KO11, ktorý má plazmid integrovaný do chromozómu a je teda dostatočne geneticky stabilný. Tento kmeň produkuje etanol zo všetkých hemicelulóзовých sacharidov s výťažnosťou viac ako 95 % teoretického maxima¹⁵. V súčasnosti sa pracuje na ekonomickej optimalizácii kultivačného média pre tento kmeň a na zvýšení jeho tolerancie voči inhibičným vplyvom. *Escherichia coli* má množstvo vlastností, ktoré z nej robia skutočne výhodný mikroorganizmus pre využitie v priemyselnej výrobe bioetanolu. Patrí medzi ne široké spektrum využiteľných sacharidov, prakticky žiadne nároky na komplexné rastové faktory a množstvo poznatkov a skúseností z už prebiehajúcich priemyselných výrobných využívaných rekombinantné kmene tohto druhu. Medzi hlavné nevýhody použitia patrí úzke spektrum optimálneho pH (6,0–8,0), menšia robustnosť bakteriálnych buniek v porovnaní s kvasinkami a možný odpor verejnosti voči prevádzkam vzhľadom na potenciálnu patogenitu⁵.

Aj *Klebsiella oxytoca* je fakultatívne anaeróbná gramnegatívna paličkovitá enterobaktéria, ktorá sa prirodzene vyskytuje v črevnom trakte ľudí a zvierat¹³, v odpadových vodách z výroby papiera a buničiny a v okolí iných zdrojov drevnej hmoty. Je schopná rásť pri pH do hodnoty 5,0 a teplotách až 35 °C na širokom spektre pentóz a hexóz, aj na celobióze a celotrióze. Práve tieto vlastnosti z nej robia druh zaujímavý pre fermentácie na lignocelulóзовých hydrolyzátach⁵. V roku 1991 Ohta a spol.¹⁶ pripravili rekombinantný kmeň M5A1 vnesením PET operónu s génmi *Zymomonas mobilis*, pričom dosiahli výťažnosť

etanolu 94–98 %. Rýchlosť premeny xylózy na etanol je rovnaká ako glukózy (2 g l⁻¹ h⁻¹ v prvých 24 h) a oproti *Escherichia coli* KO11 je dvojnásobná. Neskôr došlo ku genetickej stabilizácii kmeňa inkorporáciou vektora do chromozómu, no zároveň aj k zníženiu produkčných charakteristík kmeňa. Selekciami transformantov sa izoloval mutant *Klebsiella oxytoca* P2, ktorý vykazuje produkciu 44–45 g l⁻¹ etanolu zo 100 g l⁻¹ glukózy alebo celobiózy v priebehu 48 hodín, čo je na úrovni pôvodného kmeňa M5A1. Tento kmeň je schopný produkovať etanol okrem tradičných substrátov aj z kaše pripravenej rozomletím kancelárskeho papiera s vodou. Cieľom génových inžinierov je pripraviť variant kmeňa P2 s vlastným celulytickým aparátom v snahe znížiť náklady na prípravu substrátu pred vlastnou fermentáciou. V roku 2000 bol pripravený kmeň SZ21 vnesením génov pre extracelulárne endoglukanázy do chromozómovej DNA kmeňa P2 z baktérie *Erwinia chrysanthemi*, no produkovaná celulóзовá aktivita bola len na úrovni 1 % vyžadovanej aktivity dosahovanej prídavkom komerčných celulytických preparátov⁵.

Rod *Erwinia* takisto patrí medzi enterobaktérie. Druhy tohto rodu sa vyskytujú na rastlinách, kde pôsobia ako patogény spôsobujúce blokádu vodného systému. Majú schopnosť štiepiť pektín¹³. Niektoré kmene druhov *Erwinia chrysanthemi* a *Erwinia carotovora* boli predmetom záujmu pre svoju prirodzenú schopnosť metabolizovať celobiózu a väčšinu sacharidov vzniknutých rozkladom hemicelulózy a vysokú rýchlosť premeny substrátu na etanol (až 2 g l⁻¹ h⁻¹). Aj v tomto prípade boli pripravené rekombinanty s PET operónom. Tieto druhy disponujú endoglukanázou (EC 3.2.1.4), pektátlyázou (EC 4.2.2.2) a komplexom hemicelulytických enzýmov, ktoré umožňujú rásť na väčšom množstve substrátov, bez nákladnej enzymatickej predúpravy¹⁵.

2.2. Kvasinky

Kvasinky ako eukaryotické organizmy s diferencovanými organelami pomalšie rastú a majú teda nižšiu produkčnú rýchlosť a nižší stupeň konverzie substrátu na etanol. No ich väčšie a robustnejšie bunky, hrubšie bunkové steny, rast pri nízkom pH, menšie nároky na živiny a väčšia odolnosť voči kontaminácii a inhibítorom im dávajú výhodné postavenie pri komerčnom využití v kvasnom priemysle⁷. Kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* je tradičným mikroorganizmom výroby alkoholických nápojov a ako taká je najpreskúmanejšou kvasinkou vôbec. Preto je aj modelovým jednobunkovým eukaryotickým organizmom v základnom výskume. Súčasný trend smerujúce k produkcii palivového etanolu z lignocelulóзовých materiálov vyžadujú schopnosť produkčného mikroorganizmu efektívne skvasovať xylózu a arabínózu vznikajúcu rozkladom hemicelulózy. *Saccharomyces cerevisiae* však prirodzene neskvásova pentózy, preto je príprava kmeňov s týmito vlastnosťami predmetom génového inžinierstva. Medzi najlepšie kvasinky fermentujúce xylózu priamo na etanol, patria kmene druhov *Pichia stipitis*, *Candida shehatae* a *Pachysolen*

*tannophilus*¹⁷, avšak tieto kvasinky majú limitovanú toleranciu voči etanolu a inhibítorom vznikajúcim pri predúprave substrátu a vyžadujú prísne dodržiavanú kontrolovanú aeráciu, preto sa vhodnejším riešením ukazuje príprava a následné použitie rekombinantných kmeňov *Saccharomyces cerevisiae*¹⁸. Ako zdroj genetického materiálu pre tento účel sa uplatňuje najmä *Pichia stipitis*, ktorá produkuje etanol z glukózy, galaktózy, manózy, xylózy a celobiózy. Dosahuje vysoké výťažky etanolu a v bunkách akumuluje len malé množstvo xylitolu¹⁹. Za zmienku stoja aj kvasinky skvasujúce laktózu, ako sú *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*, *Kluyveromyces fragilis* a *Candida curvata*, ktoré by mohli byť potenciálne využité pre produkciu etanolu zo srvátky, ktorá je odpadovým produktom mliekarenských výrobov.

Saccharomyces cerevisiae je zástupca rádu *Endomycetales*. Rozmnožuje sa vegetatívne multilaterálnym pučaním, pričom netvorí pravé mycélium a generatívne vytváraním askov. Fermentuje glukózu, galaktózu, sacharózu, maltózu a rafinózu (liehovarské kmene skvasujú rafinózu iba do jednej tretiny, disacharid melibióza sa hromadí v médiu). Neasimiluje dusičnanový dusík a laktózu. Tvar buniek je guľovitý až oválny, rozmer 6–7 µm × 7,5–8,5 µm (cit.¹³). Ako už bolo spomenuté, postavenie tejto kvasinky je v priemysle výroby konzumného etanolu a alkoholických nápojov neotrasiteľné, podobne aj pri výrobe palivového etanolu zo škrobových hydrolyzátov a sacharózy je tento producent preferovaný, no na príprave vhodných kmeňov pre masívne nasadenie v produkcii etanolu z biomasy sa stále pracuje. Príprava optimálneho rekombinantného kmeňa druhu *Saccharomyces cerevisiae* pre efektívnu fermentáciu lignocelulózových hydrolyzátov zahŕňa množstvo faktorov. Prvým z nich je vlastná inicializácia metabolickej dráhy pre asimiláciu xylózy a arabinózy. Preto je potrebné do buniek vniesť gény kódujúce enzýmy umožňujúce vstup týchto sacharidov do pentózového cyklu, ktorý sa uskutočňuje prostredníctvom xylulóza-5-fosfátu. Túto premenu zabezpečuje bakteriálna xylózaizomeráza (EC 5.3.1.5), katalyzujúca premenu D-xylózy na D-xylulózu, alebo kvasničné enzýmy xylózareduktáza (EC 1.1.1.21) a xylitoldehydrogenáza (EC 1.1.1.9), ktoré zabezpečujú tú istú konverziu avšak cez medziprodukt xylitol. D-Xylulóza je následne aktivovaná xylulokinázou (EC 2.7.1.17) na D-xylulóza-5-fosfát. Premena L-arabinózy sa uskutočňuje trojkrokovým prostredníctvom bakteriálnej L-arabinózaizomerázy (EC 5.3.1.4), pričom vzniká L-ribulóza, ktorá sa ribulózakinázou (EC 2.7.1.16) fosforyluje na L-ribulóza-5-fosfát. Ten sa v treťom kroku účinkom enzýmu L-ribulóza-5-fosfát-4-epimerázy (EC 5.1.3.4) konvertuje na konečný D-xylulóza-5-fosfát. Vzhľadom na to, že prvé rekombinanty s bakteriálnou xylózaizomerázou (EC 5.3.1.5) sa neosvedčili¹⁷, bol pripravený rekombinantný kmeň, do ktorého boli vložené gény pre xylózareduktázu (EC 1.1.1.21) a xylitoldehydrogenázu (EC 1.1.1.9) z kvasinky *Pichia stipitis*. Tento kmeň však vykazoval veľmi nízke hodnoty rastu a fermentácie na xylóze a takmer vôbec ju neasimiloval v prítomnosti glukózy. Zistilo sa, že je to zapríčinené vyš-

šou afinitou xylózareduktázy (EC 1.1.1.21) pre NADPH ako pre NADH, kým v ďalšom kroku xylitoldehydrogenáza (EC 1.1.1.9) vyžaduje výlučne NAD⁺. To vedie k nadmernej akumulácii NADPH, ktorý v anaeróbných podmienkach bunka nedokáže recyklovať. V štandardných podmienkach sa nadbytok NADPH kompenzuje tvorbou glycerolu, no pre rast na xylóze je uvedený mechanizmus nedostačujúci a dochádza k nadmernému hromadeniu xylitolu. Tento negatívny jav je možné potlačiť riadeným prevzdušňovaním, no bol už pripravený aj mutantný kmeň, ktorý vykazuje vyššiu afinitu xylózareduktázy pre NADH ako pôvodný¹⁶. Druhou príčinou je fakt, že *Saccharomyces cerevisiae* nemá špecifický transportný mechanizmus pre xylózu. Jej vstup do kvasničnej bunky sa uskutočňuje uľahčenou difúziou cez nešpecifický glukózový transportér, no jeho afinita pre xylózu je veľmi nízka. Preto boli pripravené kmene s mechanizmom uľahčenej difúzie, s využitím transportných proteínov z *Debaryomyces hansenii* a neskôr aj z *Candida intermedia*. Rekombinanty s vloženou xylózaizomerázou (EC 5.3.1.5) z anaeróbných húb rodu *Piromyces* a v druhom prípade z baktérie *Thermus thermophilus*, ktoré sú výsledkom nedávnych experimentov, vykazujú zaujímavé hodnoty produkcie etanolu v anaeróbných podmienkach¹⁶. Z hľadiska zlepšenia ekonomiky prevádzky sú zaujímavé a konkurenčne výhodné kmene, ktoré majú schopnosť skvasovať súčasne xylózu aj arabinózu. Je pravda, že obsah xylózy v lignocelulózových hydrolyzátach je vyšší ako obsah arabinózy, avšak napr. kým v slame je priemerný obsah arabinózy len 3 % a v kukuričných šúľkoch 5 % a xylózy 16 % a 19 %, tak v prípade pšeničných otrúb to môže byť až 15 % arabinózy a 19 % xylózy. Prvý takýto rekombinant pripravili len nedávno v roku 2006 Karhumaa a spol.²⁰ Pri jeho príprave využili bakteriálnu metabolickú cestu pre arabinózu a gény pre xylózareduktázu (EC 1.1.1.21) a xylitoldehydrogenázu (EC 1.1.1.9) z *Pichia stipitis*. Rekombinant síce fermentoval obidve pentózy, no väčšina arabinózy sa konvertovala na arabitól, ktorý sa v bunkách akumuloval.

3. Substráty

Pre produkciu etanolu sa používajú rôzne substráty v závislosti od toho, na aké účely bude vyrobený etanol použitý. Kvalita vstupnej suroviny pre potravinársky priemysel musí samozrejme spĺňať iné kritériá ako substráty pre palivový etanol. Avšak náklady na substrát pre produkciu palivového etanolu tvoria asi tretinu celkových nákladov, preto je potrebné zosúladiť vstupný substrát s produkčným mikroorganizmom tak, aby boli výťažky etanolu maximálne, čo predpokladá maximálne využitie zložiek substrátu pri minimálnej produkcii vedľajších produktov⁵. Voľba substrátu výrazne závisí od použitého produkčného mikroorganizmu, pričom vo všeobecnosti platí, že pre bežné kmene kvasiniek sa používajú najmä substráty s obsahom sacharózy a jednoduchých hexóz. Tieto substráty sú zvyčajne produktom hydrolýzy škrobnatých substrátov, alebo medziprodukty a odpadové produk-

ty z výroby cukru. V súčasnosti drvivá väčšina komerčných liehovarov produkujúcich palivový etanol používa ako surovinu práve takéto substráty a *Saccharomyces cerevisiae* ako produkčný mikroorganizmus⁶. Najväčším svetovým producentom bioetanolu z kukurice sú USA, kým vo využití sacharózových substrátov pre tento účel je na čele Brazília².

Fermentačný proces v liehovare môže prebiehať vsádzkovo alebo kontinuálne. Hoci má kontinuálny proces svoje prednosti, v súčasnosti je viac rozšírená vsádzková fermentácia^{21,22}. Na rozdiel od produkcie alkoholických nápojov a konzumného etanolu nepracujú výrobné zariadenia na výrobu etanolu pre palivové účely v takých podmienkach, v ktorých by bolo možné dodržať sterilitu vo všetkých výrobných krokoch. Pri výrobe sa s chronickými kontamináciami počíta a sú tolerované. Veľkým problémom sú však akútne kontaminácie, kedy dochádza k prerasteniu produkčného mikroorganizmu a dochádza k významným ekonomickým stratám spojených s odstávkou výroby. Medzi najrozšírenejšie bakteriálne kontaminanty patria druhy rodu *Lactobacillus*²³.

3.1. Substráty s vysokým obsahom škrobu

Škrob je zásobný homopolysacharid zložený z α -1,4- a α -1,6- rozvetvených reťazcov molekúl glukózy pospájaných glykozidovými väzbami. Hlavnou surovinou s vysokým obsahom škrobu pre liehovarský priemysel je najmä zásluhou USA kukurica, ďalej sú to ostatné obilniny a zemiaky. V USA sa palivový etanol z kukurice sietej (*Zea mays*) vyrába už od počiatku 20. storočia. Už vtedy Fordova automobilka vyrábala vozidlá (Ford Model T), ktoré boli schopné jazdiť popri benzíne aj na farmármi produkovaný etanol. Kukuričné zrná obsahujú 70–72 % škrobu v sušine a použitím moderných technológií sa dosahuje výťažok až 300 litrov bioetanolu z 1 m³ suchej kukurice. V roku 2004 bolo v USA v prevádzke 76 liehovarov s celkovou kapacitou viac ako 11·10⁹ litrov kukuričného bioetanolu. Predpokladá sa, že v dôsledku zvýšeného dopytu sa do roku 2012 produkcia zdvojnásobi²².

Úprava škrobnatých substrátov pred fermentáciou je dostatočne prepracovaný proces zahŕňajúci enzymatické stekutenie a sacharifikáciu, pričom vzniká relatívne čisté fermentačné médium s vysokým obsahom glukózy. Takto pripravené médium je vhodné na produkciu etanolu kvasinkami *Saccharomyces cerevisiae*. V poslednom období došlo k výraznému zlepšeniu ekonomiky a efektivity výroby bioetanolu z týchto substrátov, napr. prípravou enzýmov, ktoré nevyžadujú tepelnú úpravu suroviny pred aplikáciou alebo použitím α -amyláz s optimom v nízkej oblasti pH (cit.⁶). Pri výrobe bioetanolu z kukurice sú najrozšírenejšie dva spôsoby: suchý a mokrý. Pre ekonomiku obidvoch procesov je extrémne dôležité využitie odpadových produktov vznikajúcich pri príprave suroviny. Kukurica je relatívne drahá surovina, no obsahuje množstvo cenných výživových látok, a preto sú všetky vedľajšie produkty

využiteľné ako kvalitné krmoviny. Kým suchý proces je optimalizovaný na najnižšie možné náklady na liter vyrobeného bioetanolu a rýchlu návratnosť investície, mokrý proces je investične aj energeticky náročnejší, no takáto „biorafinéria“ využívajúca túto technológiu produkuje popri palivovom etanole aj množstvo iných hodnotných látok. V suchom procese vznikajú suché liehovarské výpalky, vedľajším produktom mokrého procesu je kukuričný olej a preparáty s vysokým obsahom kukuričného lepku. Ekonomika prevádzky sa vylepšuje spracovaním oxidu uhličitého, ktorý vzniká v priebehu fermentačného procesu, pre využitie v nápojovom priemysle alebo na výrobu suchého ľadu. Prvým krokom suchého procesu je zošrotovanie suroviny na hrubú múku, ktorá sa následne rozmieša vo vode a pH suspenzie sa upraví na hodnotu 6,0. Pri teplote 80–90 °C dochádza v priebehu najmenej 30 min k enzymatickému stekuteniu škrobu jeho rozložením na dextríny účinkom pridanej termostabilnej α -amylázy (EC 3.2.1.1). Zmes sa ochladí a po úprave pH na hodnotu 4,5 sa prítomné dextríny prídavkom glukoamylázy (EC 3.2.1.3) rozložia až na glukózu. Glukoamyláza sa pridáva v takom množstve, aby k scukorneniu dochádzalo postupne v priebehu fermentačného procesu, no tak, aby nedošlo k negatívnemu ovplyvneniu špecifickej rýchlosti tvorby etanolu. Potom sa zápara prečerpá do fermentačných tanokov a zakvasí sa. Častý je prídavok amónnych solí alebo močoviny ako zdroja dusíka, prípadne je možné pri príprave zápary pridať proteolytické enzýmy, ktoré zabezpečia dostatok dusíka rozkladom kukuričných bielkovín. Štandardná fermentácia trvá 48–72 hodín a konečná koncentrácia etanolu sa dosahuje na úrovni 10–12 obj.%. Z prekvasenej zápary sa oddestiluje etanol a azeotropickou destiláciou alebo použitím molekulových sít sa oddelí zvyšná voda a v ďalšom kroku sa denaturuje. Mokrý proces je adaptáciou procesov z výroby škrobu. Do procesu prípravy suroviny sú integrované kroky namáčania suroviny, separácie klíčkov a extrakcie klíčkového oleja, izolácie gluténu, prípadne aj separácia škrobu. Pri použití pšenice sa najprv suchým spôsobom oddelia otruby a klíčky, až potom nasleduje namáčanie. Zvyšky po izolácii hodnotných vedľajších produktov vstupujú do procesu predúpravy oxidom siričitým, potom nasleduje enzymatické stekutenie a scukornenie škrobu podobne ako v suchom procese²².

3.2. Substráty s vysokým obsahom sacharózy

Sacharóza [α -D-glukopyranozyl-(1→2)- β -D-fruktofuranóza], je kvasinkami priamo kvasiteľná, a teda v procese prípravy zápary nie je potrebný krok hydrolyzy substrátu na zmes jednoduchých sacharidov. Najviac palivového etanolu zo sacharózy sa vyprodukuje v Brazílii, kde bol už v roku 1975 spustený program s názvom ProAlcool, čo bol prvý veľký projekt na výrobu bioetanolu na svete. Ako surovina sa používa sirup z cukrovej trstiny a melasa²¹, kým v Európe je zdrojom týchto substrátov cukrová repa a odpady z výroby repného cukru.

V súčasnosti viac ako polovica na svete vyprodukovaného palivového etanolu pochádza zo sacharózy²⁴. Vzhľadom na klimatické a ekonomické podmienky v Brazílii je táto krajina najväčším producentom palivového etanolu z cukrovej trstiny na svete. Cukrová trstina (*Saccharum officinarum*) obsahuje 12–17 % sacharidov v biomase, pričom asi 90 % tvorí sacharóza a zvyšok zmes glukózy a fruktózy. Priemerná efektívna extrakcie sacharidov po rozdrvení v procese prípravy záparsy dosahuje 95 %. V liehovaroch, ktoré produkujú len etanol, sa takto pripravený cukrový sirup zahreje na 110 °C, čím sa eliminuje mikrobiálna kontaminácia, v niektorých prípadoch sa ešte odparovaním koncentruje a následne fermentuje. V prípade kombinovaných cukro-liehovarov, sa najprv cukorný roztok zahusťuje, po ochladení sa odstredia vylúčené kryštály sacharózy a takto získaný matečný lúh s obsahom až 65 % rozpustených sacharidov (melasa) je vstupom do výroby etanolu. Aj cukrový sirup aj melasa zvyčajne obsahujú dostatok minerálnych látok a živín pre priamu fermentáciu klasickými liehovarskými kvasinkami *Saccharomyces cerevisiae*. Po ukončení fermentácie sa etanol oddestiluje a finalizuje obdobne ako pri výrobe zo škrobu. Vedľajším produktom pri výrobe etanolu z cukrovej trstiny je bagassa, čo je trstinová vlákna po extrakcii cukrovej zložky a liehovarské výpalky v objeme 10 až 15-násobku vyprodukovaného etanolu, ktoré sú využiteľné v poľnohospodárstve na hnojenie²¹. Technológia výroby etanolu z cukru je na pomerne dobrej úrovni, možnosti zefektívnenia sa ukazujú v použití tzv. VHG (Very High Gravity) technológií, tzn. technológií, pri ktorých sa fermentujú vysoko koncentrované substráty, a následných energetických úsporách. Najnovšie trendy na druhej strane smerujú k príprave rekombinantných kultivarov cukrovej trstiny, v ktorých by vďaka prítomnosti príslušnej izomerázy dochádzalo ku konverzii sacharózy na rastlinou neutilizovateľný sacharid izomaltulózu a k jeho následnej akumulácii. Takto by bolo možné dosiahnuť až zdvojnásobenie celkového obsahu sacharidov v sirupe z pozbieranej úrody cukrovej trstiny²⁴.

3.3. Lignocelulózové materiály

Na rozdiel od vyššie uvedených substrátov je zloženie biomasy ako substrátu pre produkciu bioetanolu výrazne rozdielne. Podstatnú zložku tvorí celulóza (40–50 %), nasleduje hemicelulóza (20–25 %) a lignín (15–20 %). Okrem toho obsahuje malé množstvo minerálnych látok, tukov, rozpustných sacharidov a ostatných látok²⁵. Lacným a potenciálne zaujímavým zdrojom lignocelulózy je slama, kukuričné šúľky, bagassa, mäkké drevo či použitý kancelársky papier s obsahom 60–80 % sacharidovej zložky v sušine²⁶.

Celulóza je štruktúrny polysacharid tvorený exkluzívne reťazcami molekúl glukózy spájanými β -(1 \rightarrow 4) glykozidovými väzbami. Hoci má celulóza rovnaké chemické zloženie ako škrob, vzhľadom na rozdielne väzby medzi molekulami glukózy je jej štruktúra rozdielna, glukozové reťazce sú pevne späté, vytvárajúc vysoko kryštal-

lickú a kompaktnú látku. Celulóza je vo vode nerozpustná a je výrazne odolná voči depolymerizácii. Hemicelulóza sa na celulózové mikrofibrily viaže vodíkovými väzbami, pričom vzniká sieť, ktorá je základom bunkovej steny rastlinných buniek. Molekuly hemicelulózy majú xylánovú resp. glukánovú kostru s množstvom postranných reťazcov substituovaných rôznymi minoritnými sacharidmi, napr. manózou, fukózou, arabinózou, galaktózou, kyselinou glukurónovou apod. Stupeň vetvenia a zastúpenie jednotlivých sacharidov je závislé na rastline, z ktorej daný materiál pochádza. Prítomnosť lignínu zvyšuje pevnosť bunkovej steny a zvyšuje odolnosť bunky voči chorobám a škodcom²⁶. Lignín sa kovalentne viaže na postranné reťazce hemicelulózy esterovými väzbami cez kyselinu ferulovú. Lignocelulóza je kompaktný materiál, ktorý svojou komplexnosťou a odolnosťou výrazne zvyšuje náklady na hydrolýzu v porovnaní so škrobom. To je dôvod, prečo je v súčasnosti bioetanol z biomasy stále drahší, ako etanol pripravený zo škrobu⁶. Prvým štádiom celého procesu je predúprava vstupnej suroviny, cieľom ktorej je rozrušenie lignínu a uvoľnenie kryštalickej štruktúry celulózy pre rýchlejšiu hydrolýzu a s tým súvisiace efektívnejšie využitie celulólytických enzýmov. Predúprava je z pohľadu ekonomiky jeden z najdrahších článkov celého výrobného procesu²⁶. V tejto fáze sa používajú rôzne chemické látky, veľmi kyslé až veľmi alkalické prostredie s rôznym konečným efektom na surovinu. Účinok termochemickej predúpravy sa prejavuje nielen na cieľovej cukrovej zložke lignocelulózy, ale vznikajú aj látky nežiaduce s potenciálnym inhibičným vplyvom na produkčné mikroorganizmy, napr. vznik furfuralov v kyslom prostredí a ferulátov a acetátov v prostredí zásaditom⁶. Nasleduje vlastná hydrolýza, pri ktorej sa celulóza štiepi na jednotlivé molekuly glukózy, a to buď enzymaticky použitím celulózového preparátu, alebo chemickou cestou účinkom sírovej alebo inej kyseliny. Súčasne dochádza aj k rozkladu hemicelulózy na zmes štruktúrnych monosacharidov. Hydrolýzou získaná zmes sacharidov je následne fermentovaná a posledným krokom je izolácia etanolu z média, ktorá sa realizuje destiláciou, príp. kombináciou destilácie a adsorpcie²⁶. Pred samotnú fermentáciu sa často zaraďuje ešte proces detoxikácie inhibitorov vznikajúcich v procese predúpravy a hydrolýzy, ako sú slabé organické kyseliny, deriváty furánu a fenolické látky. Tento krok sa realizuje použitím chemických činidiel, ako je vápno, alebo fyzikálnymi metódami, napr. iónová výmena a zefektívňuje fermentačný proces. Na druhej strane však zvyšuje náklady prevádzky. V prípade kvasiniek je možná aj *in situ* biologická detoxikácia inhibitorov, pri ktorej sa nadexpresiou génu pre alkoholdehydrogenázu (EC 1.1.1.1) dosahuje redukcia prítomných inhibičných karbonylových zlúčenín na príslušné alkoholy¹¹.

Hydrolýza substrátu v samostatnom kroku pred vlastným zakvasením záparsy sa nazýva oddelená hydrolýza a fermentácia (Separate Hydrolysis and Fermentation – SHF). Spojením týchto dvoch krokov, tzn. hydrolýzou celulózy v prítomnosti fermentujúceho mikroorganizmu dochádza k tzv. simultánnej sacharifikácii a fermentácii

(Simultaneous Saccharification and Fermentation – SSF). Ak prebieha hydrolyza celulózy aj hemicelulózu súčasne s kofermentáciou glukózy a pentózy vo fermentačnej zmesi v jednom kroku, ide o simultánnu sacharifikáciu a kofermentáciu (Simultaneous Saccharification and Co-Fermentation – SSCF). SSF a SSCF znižujú prevádzkové náklady, pretože obidva kroky prebiehajú súčasne a nie sú potrebné dva fermentačné tanky²⁶. V prípade SSF a SSCF je možné ušetriť čas hydrolyzy aj množstvo hydrolytických enzýmov, pretože v dôsledku simultánnej fermentácie vznikajúcich produktov hydrolyzy nedochádza k inhibícii celulózoých preparátov, ktoré sú vznikajúcou glukózou a celobiózou spätnoväzobne inhibované. Táto výhoda sa pravdaže výraznejšie prejavuje pri použití mikroorganizmov schopných priamo fermentovať celobiózu⁵. Do budúcnosti sa predpokladá integrácia všetkých krokov do jedného, ktorý si bude vyžadovať len jeden reaktor s použitím jedného alebo zmesi mikroorganizmov vybavených príslušným enzymatickým aparátom na hydrolyzu a fermentáciu substrátu. Pre tento koncept bol zvolený názov „konsolidovaná bioprodukcía“ – CBP (Consolidated BioProcessing). Zatiaľ preň neexistujú vyhovujúce mikroorganizmy, no z dôvodu vysokého ekonomického prínosu takejto integrácie je výskum mikrobiálnych producentov orientovaný týmto smerom¹¹.

4. Záver

V súčasnosti je technológia výroby bioetanolu zo substrátov s vysokým obsahom sacharózy a škrobu dobre zvládnutá a bioetanol na palivové účely produkujú stovky takýchto prevádzok po celom svete. Výroba bioetanolu z lignocelulózoých hydrolyzátoých je naproti tomu ešte len v začiatkoch a prevádzok využívajúcich túto technológiu je zatiaľ len niekoľko. Medzi prvé lastovičky patrí kanadská spoločnosť Iogen Corporation²⁷ a švédská spoločnosť SEKAB²⁸. Pre väčšie rozšírenie výroby bioetanolu z biomasy je potrebné najmä znížiť náklady na úpravu substrátu, tzn. znížiť cenu a zvýšiť efektívnosť procesov predúpravy²⁶. Jednou z ciest je napr. využitie geneticky modifikovaných rastlín s disrupciou v géne syntézy lignínu, ktoré majú znížený obsah lignínu v biomase², ale aj zníženie ceny enzymatických preparátov. Ďalej je to príprava mikroorganizmov schopných efektívne konvertovať na etanol popri hexózach aj pentózy, v ideálnom prípade aj s vlastnou schopnosťou hydrolyzovať substrát^{2,6}. Nevyhnutné je aj ekonomické zhodnotenie vedľajších a odpadových produktov procesu ako je napr. lignín, ktorý môže byť využitý na zabezpečenie energetických potrieb prevádzky a zvyšok predávaný ako bezpopolové tuhé palivo. V súčasnosti prebieha výskum na využitie lignínu, na základe ktorého by sa táto látka mohla stať hodnotnou surovinou pre využitie v novom odvetví chemického priemyslu¹¹.

Ďalšie možnosti pre zefektívnenie výroby palivového etanolu, či už z tradičných substrátov alebo z lignocelulózoých hydrolyzátoých, prinášajú technológie

znižujúce prevádzkové náklady, ako sú VHG technológie využívajúce vysoko koncentrované substráty, SSF – simultánna sacharifikácia a fermentácia príp. až „konsolidovaná bioprodukcía“ CBP a kontinualizácia výrobného procesu.

VHG sú technológie používajúce fermentačné médiá s obsahom 27 g a viac rozpustených látok (extraktu) v 100 g média. Ich výhodou je potreba menšieho množstva procesovej vody a celkovej energie, zvýšená produktivita a vyššia koncentrácia etanolu v zápore na konci fermentácie. Problémom je však vysoké zaťaženie buniek osmotickým tlakom a v priebehu fermentácie aj vyššími koncentraciami etanolu ako v prípade štandardných technológií²⁹. Zistilo sa, že prídavok látok, ako Mg^{2+} a Ca^{2+} kationov³⁰, kvasničného extraktu³¹, peptónu, glycinu, biotínu a iných^{29,32} a riadená mikroaerácia³³ majú ochranný účinok na bunky kvasiniek v priebehu VHG fermentácií, pozitívne ovplyvňujú ich rast a viabilitu, znižujú tvorbu vedľajších produktov (glycerol), a teda v konečnom dôsledku výtťažok etanolu.

SSF technológie prinášajú ekonomický efekt v tom, že eliminujú potrebu zariadení na hydrolyzu substrátu, pretože scukornenie substrátu prebieha priamo vo fermentačnom tanku. Okrem toho je pri tomto procese výrazne znížené zaťaženie buniek osmotickým tlakom zo strany substrátu, k scukorneniu dochádza postupne v priebehu procesu a vznikajúci substrát je priebežne fermentovaný. V súčasnosti mnoho liehovarov prechádza na SSF, pretože okrem vyššie uvedeného znižuje riziko kontaminácie, zvyšuje výtťažok etanolu na jednotku substrátu a celkove je menej energeticky náročná²².

Kontinualizácia fermentačného procesu prináša významné ekonomické výhody, ktoré prichádzajú s vyššou výtťažnosťou etanolu, zníženými stratami produktu a environmentálnymi výhodami. Prínosom je aj vysoká efektívnosť na jednotku objemu výrobného priestoru, pretože koncentrácia bunkovej hmoty v reaktore je v porovnaní so vsádzkovým systémom podstatne vyššia, najmä ak sa kontinualizácia kombinuje s recyklom buniek alebo s ich imobilizáciou. Recykus buniek sa môže dosiahnuť centrifugáciou, sedimentáciou flokulujúcich kvasiniek alebo membránovou filtráciou. Odseparované kvasinky sa vracajú do fermentačného procesu. Pri imobilizácii sa bunky produkčného kmeňa viažu na povrch inertného nosiča, do vnútra pórovitého materiálu alebo uzatvárajú do mikrokapsúl príp. iných útvarov oddelených mikropórovitou membránou. Medzi najčastejšie používané imobilizačné materiály patria prírodné a syntetické polymérne hydrogély, ako sú alginát vápenatý, agar, κ -karagénan, polyuretán, polystyrén a polyvinylalkohol, pričom imobilizáty mávajú sférický alebo šošovkovitý tvar s priemerom 0,3–3,0 mm. Hoci majú kontinuálne systémy množstvo výhod, ich rozšírenie v praxi je zatiaľ veľmi malé. Problémom sú vysoké investičné náklady na vybudovanie systému a niektoré zatiaľ nevyriešené prevádzkové problémy. Najväčšou prekážkou je však stále cena nosiča, ktorý je zrejme determinujúcim faktorom pre rozšírenie týchto systémov³⁴.

LITERATÚRA

1. Jeffries T. W.: *Nat. Biotechnol.* 23, 40 (2005).
2. Ragauskas A. J., Williams C. K., Davison B. H., Britovsek G., Cairney J., Eckert C. A., Frederick W.-J. Jr., Hallett J. P., Leak D. J., Liotta C. L., Mielenz J. R., Murphy R., Templer R., Tschaplinski T.: *Science* 311, 484 (2006).
3. Pimentel D., Patzek T., Cecil G.: *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 189, 25 (2007).
4. Smernica 2003/30/EC o podpore využitia biopalív a iných obnoviteľných zdrojov energie. <http://europe.eu>, staženo dne 15.3.2007.
5. Dien B. S., Cotta M. A., Jeffries T. W.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 63, 258 (2003).
6. Gray K. A., Zhao L., Emptage M.: *Curr. Opin. Chem. Biol.* 10, 141 (2006).
7. Jeffries T. W.: *Curr. Opin. Biotechnol.* 17, 320 (2006).
8. van Maris A. J., Abbott D. A., Bellissimi E., van den Brink J., Kuyper M., Luttik M. A., Wisselink H. W., Scheffers W. A., van Dijken J. P., Pronk J. T.: *Antonie Van Leeuwenhoek* 90, 391 (2006).
9. Talarico L. A., Gil M. A., Yomano L. P., Ingram L. O., Maupin-Furlow J. A.: *Microbiology* 151, 4023 (2005).
10. Ingram L. O., Aldrich H. C., Borges A. C., Causey T. B., Martinez A., Morales F., Saleh A., Underwood S. A., Yomano L. P., York S. W., Zaldivar J., Zhou S.: *Biotechnol. Prog.* 15, 855 (1999).
11. Hahn-Hagerdal B., Galbe M., Gorwa-Grauslund M. F., Liden G., Zacchi G.: *Trends Biotechnol.* 24, 549 (2006).
12. Seo J. S., Chong H., Park H. S., Yoon K. O., Jung C., Kim J. J., Hong J. H., Kim H., Kim J. H., Kil J. I., Park C. J., Oh H. M., Lee J. S., Jin S. J., Um H. W., Lee H. J., Oh S. J., Kim J. Y., Kang H. L., Lee S. Y., Lee K. J., Kang H. S.: *Nat. Biotechnol.* 23, 63 (2005).
13. Görner F., Valík L.: *Aplikovaná mikrobiológia požívatin*. Malé Centrum, Bratislava 2004.
14. Ingram L. O., Conway T., Clark D. P., Sewell G. W., Preston J. F.: *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 2420 (1987).
15. Ingram L. O., Gomez P. F., Lai X., Moniruzzaman M., Wood B. E., Yomano L. P., York S. W.: *Biotechnol. Bioeng.* 58, 204 (1998).
16. Ohta K., Beall D. S., Mejia J. P., Shanmugam K. T., Ingram L. O.: *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 2810 (1991).
17. Jeffries T. W., Jin Y.-S.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 63, 495 (2004).
18. Hahn-Hagerdal B., Linden T., Senac T., Skoog K.: *Appl. Biochem. Biotechnol.* 28-29, 131 (1991).
19. Karhumaa K., Fromanger R., Hahn-Hägerdal B., Gorwa-Grauslund M. F.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 73, 1039 (2007).
20. Karhumaa K., Wiedemann B., Hahn-Hägerdal B., Boles E., Gorwa-Grauslund M. F.: *Microb. Cell. Fact.* 5, 18 (2006).
21. Wheals A. E., Basso L. C., Alvez D. M. G., Amorim H. V.: *Trends Biotechnol.* 17, 482 (1999).
22. Bothast R. J., Schlicher M. A.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 67, 19 (2005).
23. Skinner K. A., Leathers T. D.: *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 31, 401 (2004).
24. Wu L., Birch R. G.: *Plant Biotechnol. J.* 5, 109 (2007).
25. Wyman C. E., Dale B. E., Elander R. T., Holtzapple M., Ladisch M. R., Lee Y. Y.: *Bioresour. Technol.* 96, 1959 (2005).
26. Mosier N., Wyman C., Dale B., Elander R., Lee Y. Y., Holtzapple M., Ladisch M.: *Bioresour. Technol.* 96, 673 (2005).
27. <http://www.iogen.ca>, staženo dne 15.3.2007.
28. <http://www.sekab.com>, staženo dne 15.3.2007.
29. Wang F. Q., Gao C. J., Yang C. Y., Xu P.: *Biotechnol. Lett.* 29, 233 (2007).
30. Ciesarová Z., Šmogrovičová D., Dömény Z.: *Folia Microbiol. (Praha)* 41, 485 (1996).
31. Bafrcnová P., Šmogrovičová D., Sláviková I., Pátková J., Dömény Z.: *Biotechnol. Lett.* 21, 337 (1999).
32. Alfenore S., Molina-Jouve C., Guillouet S. E., Uribelarrea J. L., Goma G., Benbadis L.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 60, 67 (2002).
33. Alfenore S., Cameleyre X., Benbadis L., Bideaux C., Uribelarrea J. L., Goma G., Molina-Jouve C., Guillouet S. E.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 63, 537 (2004).
34. Verbelen P. J., De Schutter D. P., Delvaux F., Verstrepen K. J., Delvaux F. R.: *Biotechnol. Lett.* 28, 1515 (2006).

M. Šulák and D. Šmogrovičová (Department of Biochemical Technology, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak Technical University, Bratislava):
Bioethanol: Current Trends in Research and Practice

The present and future trends in the applied research and industrial production of bioethanol are reviewed. The production is expected to rise quickly in the near future due to the biofuel strategy of the EU. Bacteria and yeast commonly used in the production development of specific microbes that could be useful for its large-scale production from biomass are described. The most popular substrates and current technologies in modern bioethanol plants are discussed.

SLUNEČNICE ROČNÍ (*Helianthus annuus* L.) – OBSAHOVÉ LÁTKY A BIOLOGICKÁ AKTIVITA

ZUZANA ŘEHÁKOVÁ, JANA KARLÍČKOVÁ
a LUDEK JAHODÁŘ

*Katedra farmaceutické botaniky a ekologie, Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
zuzana.rehakova@faf.cuni.cz,
jana.karlickova@faf.cuni.cz, ludek.jahodar@faf.cuni.cz*

Došlo 14.8.06, přepracováno 9.7.07, přijato 15.9.07.

Klíčová slova: *Helianthus annuus*, slunečnice, metabolity, biologická aktivita

Obsah

1. Úvod
2. Látky izolované z květu slunečnice a jejich biologická aktivita
3. Látky izolované z pylu slunečnice a jejich biologická aktivita
4. Látky izolované z listů slunečnice a jejich biologická aktivita
5. Závěr

1. Úvod

Ekonomicky významná rostlina slunečnice roční patří bezesporu k nejvíce studovaným taxonům čeledi Asteraceae. Např. za rok 2005 specializovaná databáze Medline uvádí 65 původních prací, Chemical Abstracts téměř 200. Do roku 2005 bylo popsáno v rodu *Helianthus* na 140 chemických individuí, přesto je reálné setkávat se i nadále s novými výsledky v oblasti rostlinné fyziologie, biochemie, fytochemie a také při studiu biologické aktivity izolovaných metabolitů. Tím ovšem nechceme ubírat na významu experimentů v oblasti agrotechnologie, fytopatologie apod.

Slunečnice roční, *H. annuus*, čel. Asteraceae (hvězdnicovité), pochází z území Mexika až Peru¹, kde byla pěstována již před třemi tisíci lety². V Evropě byla od roku 1510 pěstována nejprve jako dekorativní a od 18. století jako rostlina užitková. Nyní je pěstována v řadě zemí, především v teplých oblastech mírného pásu a v subtropích. Je pojmenována na počest Helia, řeckého boha Slunce³. Semeno obsahuje až 70 % polovysychavého oleje s vysokou dietetickou hodnotou. Tvoří ho především triacylglyceroly s vázanými mastnými kyselinami – linolo-

vou (asi 60 %), olejovou (25 %), palmitovou (3–10 %), stearovou (1–10 %) a myristovou (pouze 0–0,2 %)⁴.

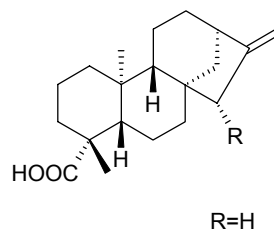
Olej je výborné potravinářské jakosti, zvláště vhodný k výrobě ztužených pokrmových tuků, stolních olejů, ke konzervaci ryb, ale také pro výrobu mýdel, laků a fermeží. Má využití i v dalších odvětvích průmyslu včetně farmaceutických technologií, kde slouží jako vehikulum injekčních přípravků, rozpouštědlo hydrofobních léčiv, přísada do mastí apod.

Byla provedena studie se slupkami nažek *H. annuus*, kde byly identifikovány fenolové látky, zejména kyselina chlorogenová a kyselina kávová. V různých polárních extraktech ze slupek byla potvrzena testy *in vitro* antioxidační aktivita^{5,6}.

Rostlina je využívána i v lidovém léčitelství, a to květní úbory ve formě odvaru či tinktury jako antineuralgikum a antipyretikum, při gastrointestinálních potížích a bronchiálních spasmech. Odvar je doporučován i zevně při zánětlivých kožních onemocněních. Tradiční medicína využívá olej i semena. Pokrutiny jsou velmi vydatným krmivem, neboť obsahují až 36 % bílkovin. Semena jsou bohatá na vitamin B₁ a B₂, niacin, železo, fosfor, draslík, síru, rostlinné tuky a proteiny^{1–3}.

2. Látky izolované z květů slunečnice

Z květenství slunečnice roční byly izolovány tyto látky: kyselina *ent*-kaur-16-en-19-ová (*I*), angelát grandiflorové kyseliny, kyselina eudesma-1,3,11(13)-trien-12-ová. Dále látky typu auronu, přesně 5-hydroxy-4,4',6-trimethoxyauronu⁸. V jazykovitých květech pak loliolidacetát⁹. Následně pak byla izolována kyselina grandiflorová, diterpen 7-oxotrachyloban-15 α ,19-diol, kyselina 15 α -hydroxytrachyloban-19-ová, germakranolidy niveusin B a 3-*O*-methylniveusin A, 15-hydroxy-deoxy-3-dehydrotrifruticin, 1,10-*O*-dimethyl-3-dehydroargofyllin B-diol, 3-oxo forma 1-*O*-methyl-4,5-dihydroniveusinu A, agropyllin A, 1-*O*-methyl-4,5-dihydroniveusin A, 4,5-dihydro-



I (kyselina *ent*-kaur-16-en-19-ová)

niveusin A a flavon nevadensin. Seskviterpeny izolované z květů vykazovaly silný účinek proti *Diabrotica virgifera virgifera*, červům napadající kořeny dospělé kukuřice⁸.

Byly zkoumány látky izolované z květního lůžka slunečnice, které vykazovaly antimikrobiální účinky. Byly to zejména terpenoidy – kyselina *ent*-kaur-16-en-19-ová, kyselina *ent*-trachyloban-19-ová a niveusin.

Kaurenová kyselina izolovaná z květů slunečnice se ukázala jako účinná proti larvám *Homeosa electellum*, *H. zea*, *H. virescens* a *Pectinophora gossypiella*.

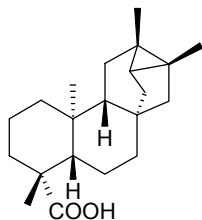
Testování cytotoxicity kaurenové kyseliny bylo provedeno na garnátech (IC_{50} 2,03 $\mu\text{g ml}^{-1}$, 16 $\mu\text{g ml}^{-1}$) a různých buněčných liniích (myši lymfatické leukémie, karcinomu prsu, plic, tlustého střeva, vaječníků, prostaty a kůže).

Kaurenová kyselina vykazovala také antifertilní aktivitu u primátů, protizánětlivé působení (test edému tlapy potkana), antiagregační aktivitu a antimikrobiální aktivitu proti *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* a *Mycobacterium smegmatis*¹⁰.

Další deriváty kauranových diterpenů *ent*-kauran-16 α -ol, *ent*-atisan-16 α -ol, *ent*-trachyloban-19-ová kyselina a *ent*-kaur-16-en-19-ová kyselina byly hodnoceny v biologickém testu využívajícího hmyzu parazitujícího na slunečnici (*Cochylis hospes*). Zjišťoval se počet nakladených vajíček v určitém čase a jeho ovlivnění testovanou látkou. Významný stimulující efekt na kladení vajíček vykazovaly deriváty *ent*-kauran-16 α -ol a *ent*-atisan-16 α -ol (cit.¹⁴).

Směs dvou diterpenových kyselin, kaurenové a angelátu grandiflorové kyseliny, se ukázala jako nejsilnější inhibitor růstu vláknitých stélek hub *Verticillium dahlie*, *Sclerotinium sclerotiorum*. Selektivním šlechtěním tak, aby bylo dosaženo většího množství těchto terpenoidů v slunečnici, může být vylepšena přirozená rezistence vůči houbovým patogenům¹¹.

Pyrek^{9, 12} izoloval *ent*-trachyloban-19-ovou kyselinu spolu s *ent*-kaur-16-en-19-ovou kyselinou. Dále izoloval z jazykovitých květů i estery těchto dvou kyselin s thuja-nolem. Kyselinu trachyloban-19-ovou považuje za majoritní diterpen, ostatní její deriváty jsou prezentovány jako minoritní doprovod těchto látek. Alfatafta⁸ izoloval 7-oxo-



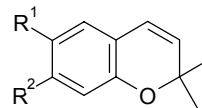
II (kyselina *ent*-trachyloban-19-ová)

trachyloban-15 α ,19-diol a kyselinu 15 α -hydroxy-trachyloban-19-ovou.

Dále byla z květů izolována kyselina eudesma-1,3,11

(13)-trien-12-ová (cit.⁸).

Z ethanolového extraktu úborových lůžek byly izolovány chromenové sloučeniny. Byly identifikovány jako demethoxyencekalin (6-acetyl-2,2-dimethylchromen, III) a demethylenekalin (6-acetyl-7-hydroxy-2,2-dimethylchromen, IV) (cit.¹³). U nich byla prokázána antitumorická aktivita hodnocená metodou papírového disku a testovaná na houbě *Pyricularia oryzae*. Ze suchého a rozemletého prášku úborových lůžek a semen byly následně připraveny hexanové, diethyletherové a ethyl-acetátové extrakty. Jejich antimikrobiální aktivita byla hodnocena na *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* a *Staphylococcus aureus*. Stejně výsledky vykazovaly také extrakty získané z květenství. Extrakty dalších rostlinných orgánů nevykazovaly takovou toxicitu na žádný z testovaných mikroorganismů. Kromě toho hexanové i diethyletherové extrakty úborových lůžek vykazovaly antitumorickou aktivitu proti *Cladosporium herbarum*. Struktury těchto izolovaných látek jsou velmi podobné strukturám prekocenu I a II (V, VI)¹³.



III (demethoxyencekalin): $R^1 = \text{CH}_3\text{CO}$, $R^2 = \text{H}$

IV (demethylenekalin): $R^1 = \text{CH}_3\text{CO}$, $R^2 = \text{OH}$

V (prekocen I): $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}_3\text{O}$

VI (prekocen II): $R^1 = \text{CH}_3\text{O}$, $R^2 = \text{CH}_3\text{O}$

Bader izoloval tři bisdesmosidové triterpenoidní saponiny – helianthosid 1, 2 a 3 (cit.¹⁴).

Imunomodulační efekt u myši a antitumorový efekt na *in vivo* modelech byl prokázán u virgaureasaponinu E (cit.¹⁵).

Helianthosid je základní saponin izolovaný z *H. annuus* L. Je charakterizovaný jako bidesmosid echinocystové kyseliny. Cytotoxicita této látky testovaná na myších nádorových buňkách (linie P-815 a YAC-1) byla významná ve srovnání se saponiny izolovanými z jiných rostlin, naopak hemolytický index byl nízký¹⁶.

Z methanolového extraktu květů slunečnice byly získány steroly, triterpenové alkoholy a alkan-6,8-dioly. Tyto sloučeniny vykazují značnou protizánětlivou aktivitu proti působení 12-*O*-tetradekanoylforbol-13-acetátu (TPA), který způsobuje zánět u myši. Kromě toho alkan-6,8-diol projevuje inhibiční účinek na nádorový účinek TPA ve dvou stádiích zhoubného bujení na kůži myši.

3. Látky izolované z pylu slunečnice

Bylo popsáno složení lipidů v pylu rostliny slunečnice roční extrahovaných hexanem. Lipidy z extraktu obsahují několik skupin sloučenin: triterpeny, β -diketony, hydroxy-

ketony, β -dioxoalkany, alkany, mastné kyseliny, estery a β -dioxoalkanové kyseliny¹⁷.

Při výzkumu se speciálním zaměřením na terpenoidní složky izolované z diethyletherového extraktu pylu bylo izolováno a charakterizováno 27 sloučenin, z toho 16 terpenoidních složek. Mezi nimi byly čtyři estery mastných kyselin a triterpenových alkoholů a jejich hydrolytické produkty, čtyři volné triterpenové alkoholy, čtyři diterpenové kyseliny, dvě sloučeniny odvozené od tokoferolu, čtyři estolidy, tři alkan-4,6-dioly, jedna β -dioxoalkanová kyselina a jeden alifatický keton. Dva methylestery estolidů byly nedávno připraveny polosynteticky z odpovídajících kyselin.

Hlavní složka obsažená v pylu *H. annuus* byl seko-triterpen, dále pak β -diketony jako hlavní skupina sloučenin. Bylo testováno třicet sloučenin na inhibiční efekt na EBV-EA (virus Epstein-Barrové – první antigen) vyvolaný TPA v Raji buňkách (EBV genom nesoucí lidské lymfoblastické buňky používané pro screeningové určení antitumorových promotorů) v *in vitro* experimentu. Jako referenční látka byl zvolen β -karoten. Inhibiční efekt 21 di- nebo polycyklických sloučenin byl stejný nebo silnější než β -karoten. Podle výsledků této studie se terpenoidní a lipidové struktury jeví jako vhodná potenciální chemopreventivní činidla typu antitumorových promotorů¹⁸.

Dále bylo izolováno z diethyletherového extraktu pylových zrn *H. annuus* šest rozvětvených 3,4-sekotirucallanových typů triterpenoidů (X) (cit.¹⁹).

Doprovodné látky lipidů pylu

Alifatické ketony

Z pylových zrn byla izolována celá řada β -diketonů, hlavní skupiny lipidů pylu. Jako majoritní sloučeniny byly stanoveny 4,6-diony a 6,8-diony, 10,12-diony potom jako minoritní. Délka uhlíkového řetězce jednotlivých sloučenin se pohybuje od 18 do 33 uhlíků. Podařilo se izolovat rovněž do té doby neznámé 1-fenylalkan-1,3-diony. Hlavní aromatický diketon je 1-fenylhexadeca-1,3-dion (cit.¹⁷).

β -Hydroxyketony

Majoritním β -ketonem je 4-hydroxynonadekan-6-on (cit.¹⁷).

Mezi izolovanými látkami byly alkyny typu 4-ol-6-on a jejich polohové isomery 6-ol-4-on, 5-ol-7-on a 6-ol-8-on a jejich polohové isomery 6-on-8-ol. Délka uhlíkového řetězce se pohybovala mezi C₁₉ až C₂₇. Byly izolovány také 1-fenyl-3-hydroxy-alkan-1-ony a jejich polohový isomer 1-ol-3-on s délkou alkanu od C₂₂ do C₂₇.

Dioly

Z pylových zrn se podařilo izolovat tři alkan-4,6-dioly: *syn*-nonadeca-4,6-diol, *syn*-henikosan-4,6-diol a *syn*-dokosan-4,6-diol (cit.¹⁸).

Schulz¹⁷ stanovil výše uvedené sloučeniny jako hlavní dioly pylu a izoloval z pylu další sloučeniny typu β -diolů. Majoritními sloučeninami jsou 4,6-dioly doprovázené

malými množstvími 5,7-, 6,8-, 10,12-diolů a 1-fenyl-1,3-diolu. Délka uhlíkatého řetězce se pohybuje od C₁₉ do C₂₅.

Alkany

Z pylových zrn bylo izolováno menší množství lineárních alkanů C₂₅, C₂₇, C₂₉, C₃₁ a C₃₃ (cit.¹⁷).

Mastné kyseliny

Byla izolována řada nasycených mastných kyselin od hexanové po nonakosanovou s výjimkou C₇ a C₂₇ kyselin. Nenasycené mastné kyseliny jsou reprezentovány kyselinami hexadec-9-enovou (9-16:1) a kyselinami kodové označenými 9-18:1, 11-18:1, 9,12-18:2, 18:3, 11-20:1, 11,14-20:2 a 13-22:1. Hlavní látkou je kyselina ikos-11-enová, všechny ostatní se vyskytují v menším nebo zanedbatelném množství¹⁷.

Estery mastných kyselin

Menší množství dodecyl-palmitátu, oktyl-ikosanoátu a oktyl-ikosadienoátu a menší množství methylesterů výše zmiňovaných mastných kyselin bylo izolováno z pylových zrn¹⁷.

Dále pak byly získány estery hydroxylovaných mastných kyselin estolidového typu: kyselina 18-(hexadekanoyloxy)oktadec-9-enová, její methyl a ethyl ester a kyselina 18-(oktadekanoyloxy)oktadec-9-enová a její methyl a ethyl ester (cit.^{17,18}).

β -Dioxoalkanové kyseliny

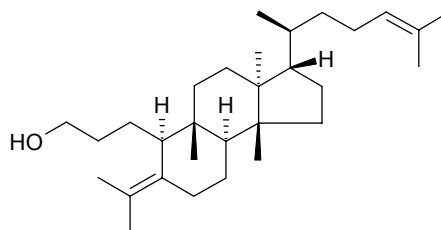
Z extraktu pylových zrn byly izolovány kyselina 14,16-dioxopentakosanová a celá řada dalších kyselin, jako 16,18-dioxoheptakosanová kyselina a 16,18-dioxoheptakosanová kyselina, dále pak $\Delta^{6,8}$ -, $\Delta^{10,12}$ - a $\Delta^{12,14}$ - β -dioxoalkadienové kyseliny. Délka uhlíkatého řetězce se pohybuje od C₂₄ do C₂₉ uhlíků¹⁸.

Terpenoidní složky pylu

Tuto skupinu metabolitů lze rozdělit na estery mastných kyselin a triterpenových alkoholů a diterpenové kyseliny.

Estery mastných kyselin a triterpenových alkoholů

Schulz¹⁷ a Ukiya¹⁸ izolovali terpen helianol (VIII), dále byl získán helianyl- oktanolát jako hlavní vyskytující se sloučenina. Tyto látky byly doprovázeny malým množstvím hexanoátu, dekanóátu a dodekanoátu.



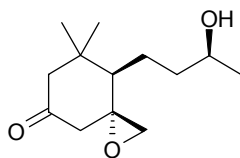
VIII (helianol)

Triterpenové alkoholy

Sekotirukallany

Byly izolovány triterpenový alkohol helianol (3,4-*seko*-19(10→9)-abeo-8 α ,9 β ,10 α -tirukalla-2,24-dien-3 β -ol) a jeho oktanoát jako jedna z majoritních triterpenových složek, která popřípadě může být doprovázena malým množstvím hexanoátu, dekanoátu a dodekanoátu, (24*S*)-24,25-dihydroxyhelianyl-3-oktanoát a jeho 24*R* epimer, 4 α ,5 α -epoxyhelianol a jeho 3-oktanoát, (24*S*)-4 α ,5 α :24,25-diepoxyhelianyl-3-oktanoát a jeho 24*R* epimer, (24*S*)-24,25-dihydroxy-4 α ,5 α -epoxyhelianyl-3-oktanoát a jeho 24*R* epimer¹⁸.

Dále pak sloučeniny odvozené od 3,4-*seko*-tirukallanu: sunpollenol (4-hydroxy-3,4-*seko*-19(10→9)-abeo-8 α ,9 β ,10 α -tirukall-24-en-3,5-oxid), (24*R*)-24,25-epoxy-sunpollenol a jeho 24*S* epimer, dehydro-(23*E*)-25-hydroxy-sunpollenol a (24*R*)-24,25-dihydroxysunpollenol a jeho 24*S* epimer¹⁹.



VII (tirukallol)

Pentacyklické triterpeny

- 1) skupina ursanu (α -amyrinu): Ukiya¹⁸ izoloval z pylových zrn α -amyrin,
- 2) skupina oleananová (β -amyrinu): Bader²⁰ izoloval bidesmosidy helianthosid 1, 2 a 3.

Diterpenové kyseliny

V diethyletherovém extraktu pylových zrn byly prokázány tyto látky: kyselina *ent*-kaur-16-en-19-ová, angelát kyseliny grandiflorové, kyselina grandiflorová a kyselina trachyloban-19-ová (cit.¹⁸).

Fytosteroly

Fytosteroly jsou terpenoidní alkoholy mající v organismu nejméně dvě funkce – jsou prekurzory pro syntézu ostatních steroidních látek a jsou důležitou složkou buněčných membrán, stabilizují je a účastní se řízení jejich propustnosti, k tomu je důležitá volnost C₃- β hydroxyskupiny pro interakci s fosfolipidy²¹.

Z extraktu pylových zrn byly dále izolovány β -sitosterol, stigmasterol (3,4,22,23-tetrahydro- β -sitosterol), isofukosterol (5,6,24,25-tetrahydro- β -sitosterol) a neophytadien¹⁷.

Kumariny

Murray²² uvádí přítomnost skopoletinu, jeho *O*-glukosidu a ayapinu.

Tokoferoly

Z extraktu pylových zrn byly izolovány α - a γ -tokoferol (cit.^{17,18}). Dále pak (5*S*)-3 α -acetyl-7 α -hydroxy-2,3,5-trimethyl-5-(4,8,12-trimethyltridekan-1-yl)-1,3 α ,5,6,7,7 α -hexahydro-4-oxainden-1-on a jeho 5*R* epimer¹⁸.

4. Látky izolované z listů slunečnice

Chemická studie listů slunečnice ukázala, že je tento druh bohatým zdrojem terpenoidů s širokým spektrem biologických účinků, včetně alelopatie (nepříznivý vliv jedné rostliny na druhou, způsobený produkty látkové výměny). Dichlormethanový extrakt suchých listů byl podroben chromatografii na tenké vrstvě za použití mobilní fáze hexan-aceton s rostoucí polaritou. Ze středně polární frakce bylo získáno 13 sloučenin. Izolace a objasnění struktury se týkalo těchto látek: bisnorseskviterpenu annuionu E (IX), 7,11-heliannanu (heliannuoly A (X), C, D (XI), F, G, H, I a L (XII) a dvou seskviterpenů (helibisabonol A (XIII) a helibisabonol B (XIV)). Navíc byly získány látky známé struktury, a to seskviterpenové laktony annulid E a leptokarpin (XV), 7,10-heliannanové heliannuoly D, F a I.

Biologické účinky těchto izolovaných sloučenin byly testovány bioanalýzou pšeničných koleoptilů (blanitý obal zárodku jednoděložných rostlin, chránící prvotní vzrostlý vrchol rostliny)²³. Z vodného extraktu celých listů byly izolovány a chemicky charakterizovány fenolické sloučeniny (deriváty benzoové kyseliny, kumariny a flavonoidy) a další terpenové deriváty např. (heliespirony).

Z polární frakce listů *H. annuus* cv. Stella a SH-222 byly izolovány apokarotenoidy annuion F [(1*R*,5*R*,6*S*,9*R*)-6,13-dihydroxy-3-oxo-5,6-dihydro- β -ionol] a G [(3*R*,5*R*,7*R*)-3,5-dihydroxy-6,7-dehydro-5,6-dihydro- β -ionol]. Řada apokarotenoidů, sloučenin s počtem uhlíků menším než 40, ale se strukturou značně podobnou karotenům, se vyskytuje v podobě rostlinných olejů a často je zodpovědná za vůni rostlin²⁴.

Terpeny

Seskviterpeny

Heliannany

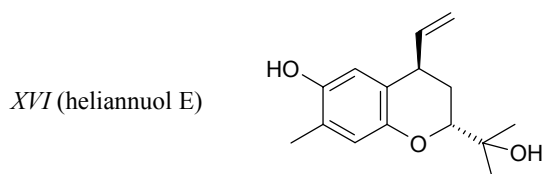
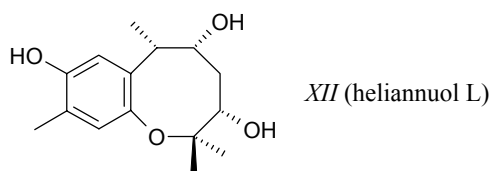
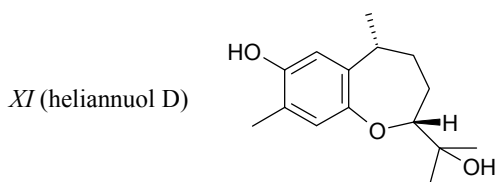
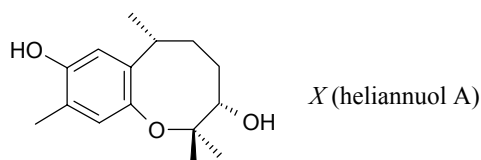
Heliannany představují typ seskviterpenů izolovaných z nadzemních částí slunečnice roční a mořských hub (*Haliclona fascigera*). Je pro ně typický substituovaný aromatický kruh kondenzovaný s heterocyklem různé velikosti obsahujícím kyslík. Vzhledem k nové struktuře a fytotoxickým vlastnostem některých členů této skupiny byly studovány z hlediska vztahu mezi strukturou a aktivitou (SRA studie).

Heliannuol A (X) byl prvním heliannanem uvedeným v literatuře. Byl izolován z listů slunečnice roční. Překvapivě žádné jiné heliannuoly nebyly izolovány z žádné jiné nadzemní části této rostliny. Nicméně základní skelet heli-

annanu byl izolován později z mořské houby *Haliclona fascigera*.

Tyto látky lze rozdělit na základě chemické struktury na 4 skupiny:

1. 7,11-heliannany (cit.^{23,25,26,27,28}): heliannuol A (cit.^{23,26,28}) (X), heliannuol C, D (XI), F, H, I a L (XII), heliannuol G (cit.^{23,27}) a jeho 8 epimer (heliannuol H (cit.²⁷) a heliannuol K (cit.²⁷)),
2. 7,10-heliannany: heliannuol B (cit.^{25,26,28}) a jeho 8,9-dihydroderivát heliannuol D (cit.^{25,26,28}), 8-oxo-heliannuol D (heliannuol F (cit.^{25,27})), a 7,8 epimery 7,8-epoxyheliannuolu B (heliannuol I (cit.^{25,27}) a heliannuol J (cit.^{25,27,29})),
3. 8,11-heliannany: heliannuol C (cit.^{25,26,28}),
4. 8,10-heliannany: heliannuol E (XVI) (cit.^{25,30}).



Byla hodnocena biologická aktivita 11 heliannuolů (izolovaných ze slunečnice) bioanalýzou jednoděložných a dvouděložných rostlin na Petriho miskách. Jako standard sloužil herbicid Logran®. Bioanalýza byla prováděna na semenech hlávkového salátu (*Lactuca sativa*), řeřichy (*Lepidium sativum*), cibule (*Allium cepa*), pšenice (*Triticum aestivum*) a ječmene (*Hordeum vulgare*). Klíčivost semen a délka kořenů i výhonků byly určeny Welchovým testem.

Zjistilo se, že heterocyklické sloučeniny heliannuol A (X) a C jsou aktivní, zatímco sloučeniny s otevřeným kruhem helibisabonol A (XIII) a B (XIV) jsou neaktivní. Pří-

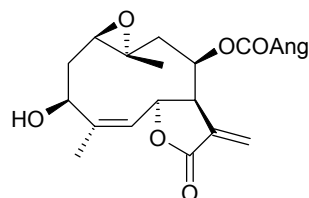
tomnost heterocyklu je tedy rozhodující pro účinnost. Většina heliannuolů je aktivní u dvouděložných nebo jednoděložných druhů. Klíčovou roli hraje rovněž velikost kruhu. Účinnost při bioanalýze na Petriho miskách klesá v pořadí osmičlenný > sedmičlenný > šestičlenný kruh. To platí rovněž pro bioanalýzu pšeničných koleoptilů. Rovněž poloha hydroxyskupiny má vliv na účinnost. Sloučeniny, které mají hydroxyskupinu na heterocyklu (7,11-heliannuoly a 8,11-heliannuoly), jsou aktivnější než ty, které mají hydroxyskupinu na isopropylové skupině (7,10-heliannuoly). Rovněž klíčovou roli hraje stereochemie chirálního centra. Při porovnání efektu heliannuolu G a jeho epimeru na C-8 heliannuolu H byly zjištěny velké rozdíly mezi účinnostmi obou sloučenin.

Heliannuoly A, C, D, G byly testovány standardní fytochemickou zkouškou STS (standard target species), která pracuje s pšeničnými koleoptily a zachycuje mimo jiné i antimikrobiální a antifungální efekt. Významná inhibice byla prokázána u heliannuolu A a D (cit.²⁵).

Seskviterpenové laktony

Macías²³ navíc získal látky známé struktury, a to seskviterpenové laktony annuolid E a leptokarpin (XV), což je 4,5-dehydroagrofyllin B.

Macías³¹ izoloval z listů dimerní seskviterpenový laktón helivypolid G, v kterém jsou spojeny dva seskviterpenové laktony spirocyklickým dihydropyranovým kruhem. Podařilo se ho získat ze středně polární frakce listů *H. annuus* var. Stella. Surový extrakt byl rozdělen na koloně silikagelu a dále čištěn HPLC, mobilní fáze byla hexan/acetón. Helivypolid G byl izolován jako nažloutlá amorfnní látka³¹.



COAng = angeloyl

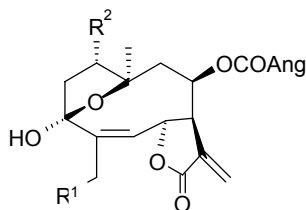
XV (leptokarpin)

Melek³² identifikoval z listů agrofyllin A jako hlavní germakrolid a agrofyllin B, niveusin a 4,5-dihydroniveusin A jako minoritní.

Ze slunečnice roční byl již dříve izolován biologicky aktivní furanoheliangolid, který byl identický s niveusinem C (XVII) (cit.³³) izolovaným z *H. niveus* a z *H. maxmilliani*. Z ethanolového extraktu mladých listů a vrcholových částí stonků byly získány tři seskviterpenové laktony - známá látka niveusin B, nový germakranolid tifruticinového typu a 3-ethoxyniveusin B. K určení struktury byla využita IČ, ¹H a ¹³C NMR a MS spektra^{34,35}.

Chemická analýza pryskyřičných glandulárních trichomů z povrchu listů vedla k izolaci šesti seskviterpenových laktónů separací HPLC. Kromě známých heliangolidů

dů niveusinu C, 15-hydroxy-3-dehydrodeoxyfruticin (autorem též zvaný annuithrin), argophyllinu B, byly objeveny a charakterizovány nové germakranolidy odvozené od niveusinu typu A (1-methoxy-4,5-dihydroniveusin A, 1,2-anhydridoniveusin A, 1,2-anhydro-4,5-dihydroniveusin A). K určení jejich struktury byla využita ^1H a ^{13}C NMR a MS spektra³⁵.



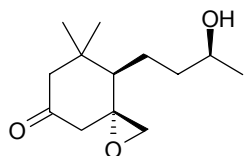
$\text{R}^1 = \text{H}$ $\text{R}^2 = \text{OH}$, $\text{COAng} = \text{angeloyl}$

XVII (niveusin C)

Seskviterpenové laktony (germakranolidy) z listů slunečnice vykazovaly antimikrobiální aktivitu testovanou na bakteriích a houbách. Niveusin B vykazoval vyšší inhibiční účinek proti bakteriím (MIC: $15 \mu\text{g ml}^{-1}$ pro *Bacillus brevis*, $50 \mu\text{g ml}^{-1}$ pro *Proteus vulgaris*, $95 \mu\text{g ml}^{-1}$ pro *Eremothecium ashbyi*), zatímco jeho ethoxy derivát vykazoval vyšší účinnost proti houbám (MIC: $40 \mu\text{g ml}^{-1}$ pro *B. brevis*, $85 \mu\text{g ml}^{-1}$ pro *P. vulgaris*, $65 \mu\text{g ml}^{-1}$ pro *E. ashbyi*) než deoxyfruticin (MIC: $35 \mu\text{g ml}^{-1}$ pro *B. brevis*, $87 \mu\text{g ml}^{-1}$ pro *P. vulgaris*, $98 \mu\text{g ml}^{-1}$ pro *E. ashbyi*). Rovněž byl proveden test s ovesnými koleoptily na lineární růstovou redukci: ta byla 80 % (± 6) pro niveusin B, 57 % (± 9) pro jeho ethoxyderivát a 61 % (± 6) pro deoxyfruticin.

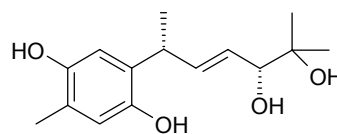
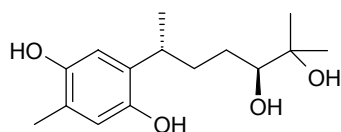
Norseskviterpeny

Z listů slunečnice roční byly izolovány bisnorseskviterpeny – annuolidy: annuionon A, jeho 7,8-dihydroderivát annuionon B, annuionon C, annuionon E (IX), annuionon F [(1*R*,5*R*,6*S*,9*R*)-6,13-dihydroxy-3-oxo-5,6-dihydro- β -ionol], annuionon G [(3*R*,5*R*,7*R*)-3,5-dihydroxy-6,7-didehydro-5,6-dihydro- β -ionol] (annuoiny jsou také řazeny mezi apokarotenoidy) a tři seskviterpeny bisabolonového typu: helibisabolon A (XIII), helibisabolon



IX (annuionon E)

XIII (helibisabolon A)



XIV (helibisabolon B)

B (XIV) a norbisabolon helinorbisabolon^{25, 36–38}.

Dále bylo izolováno šest bioaktivních norseskviterpenů z čerstvých listů slunečnice roční varieta SH-222[®] a VYP[®]. Tři nové typy bisnorseskviterpenů annuionony A-C a norbisabolon helinorbisabolon vykazovaly potenciální alelopatický účinek na jednoděložné rostlinné druhy. Mannův-Whitneyův test byl prováděn s těmito látkami na semenech hlávkového salátu (*Lactuca sativa*), řeřichy (*Lepidium sativum*), cibule (*Allium cepa*) a ječmene (*Hordeum vulgare*). Byla zjišťována klíčivost a délka kořene. Potenciální alelopatická aktivita byla zaznamenána u klíčení jednoděložných rostlin (*A. cepa*, *H. vulgare*) u tří bisnorseskviterpenů a norbisabolonu³⁶.

Heliespirany

Macías³⁹ izoloval z vodného extraktu čerstvých listů vyšlechtěné slunečnice varieta SH-222[®] bioaktivní (potenciální alelopatické činidlo) spirosekviterpen heliespiron A.

Flavonoidy

Flavonoidy tvoří početnou skupinu žlutých nebo oranžových rostlinných látek – deriváty fenylchromanu. Základem jejich struktury je chroman s arylem v poloze 2 (flavany), 3 (isoflavany) nebo 4 (neoflavany).

Flavonoidy jsou látky vyskytující se pouze v rostlinné říši, a to nejčastěji ve formě flavanů. Jednotlivé flavonoidy se od sebe dále liší počtem a polohou hydroxyskupin na aromatických kruzích, přítomností dvojných vazeb a vazbou cukrů nebo organických kyselin. V rostlinném organismu se vyskytují jako glykosidy nebo volný genin.

Macías⁴¹ izoloval z listů slunečnice roční flavonoidy typu chalkonů kukulkanin B a heliannon A. Z listů slunečnice roční byly izolovány látky typu flavanonů heliannon B a heliannon C a také látka typu flavanolů tambulin⁴⁰.

5. Závěr

Cílem tohoto článku byla snaha shrnout všechny dosud izolované látky z rostliny *Helianthus annuus* a jejich biologické účinky včetně alelopatie.

Taxon *H. annuus* je znám široké veřejnosti zejména jako surovina pro výrobu oleje vynikající potravinářské jakosti. Je zvláště vhodný k výrobě ztužených pokrmových tuků, stolních olejů, ke konzervaci ryb, ale také pro výrobu mýdel, laků a fermeží. Využívá se i v dalších odvětvích průmyslu včetně farmaceutických technologií^{5,6}. Kromě semen byly z hlediska obsahových látek prozkoumány

zejména listy a květy. Rostlina je také odedávna využívána v lidovém léčitelství^{1–3}. Jako většina rostlin z čeledi Asteraceae obsahuje také seskviterpenové laktony, které mají fotosenzibilizující schopnost (např. 1,2-anhydro-4,5-dehydroniveusin apod.)⁷, ale jejich množství v rostlině je téměř zanedbatelné.

Do oblasti fytochemie tento taxon přináší celou řadu struktur v jiných rostlinách dosud nepopsaných látek. Typově se však nevyvíká chemotaxonomickým charakteristikám Asteraceae. Mnohé z izolovaných látek vykazují nadějnou biologickou účinnost.

Z úborů slunečnice roční byla izolována celá řada látek s bohatými biologickými účinky. Látky typu terpenoidů izolované z květů *H. annuus* vykazují nejrůznější biologické účinky, zejména antimikrobiální. Jde především o terpenoidy – kyselinu ent-kaur-16-en-19-ovou, kyselinu trachyloban-19-ovou a niveusin. Kaurenová kyselina měla dále účinky cytotoxické, protizánětlivé a antifertilní¹⁰. Z ethanolového extraktu úborových lůžek byly izolovány sloučeniny typu chromenů. Byla u nich prokázána významná antimykotická účinnost. Ze suchého jemného prášku úborových lůžek a semen byly následně připraveny hexanové, diethyletherové a ethyl-acetátové extrakty se značnou antimikrobiální a antimykotickou aktivitou¹³.

Imunomodulační efekt a antitumorový efekt na *in vivo* modelech byl prokázán u virgaureasaponinu E (cit.¹⁵). Cytotoxická účinnost byla dále prokázána u helianthosidu, saponinu, izolovaného z květů *H. annuus*¹⁶.

Z methanolového extraktu květů *H. annuus* byly získány steroly, triterpenové alkoholy a alkan-6,8-dioly. Tyto sloučeniny projevují značnou protizánětlivou účinnost proti 12-*O*-tetradekanoylforbol-13-acetátu (TPA), který způsobuje zánět u myši. Kromě toho alkan-6,8-diol vykazuje inhibiční účinek na karcinogen TPA ve dvou stádiích zhoubného nádorového bujení na kůži myši.

Dále byla popsána celá řada látek izolovaných z pylu. Byl zkoumán inhibiční efekt proti EBV-EA. Dle výsledků této studie se terpenoidní a lipidové struktury izolované z pylu slunečnice roční jeví jako vhodná potenciální chemopreventivní činidla typu protirakovinových promotorů¹⁸.

Chemická studie listů *H. annuus* ukázala, že jsou bohatým zdrojem nejrůznějších látek, zejména pak terpenoidů se širokým spektrem biologických aktivit, včetně alelopatie. Seskviterpenové laktony (germakranolidy) z listů slunečnice projevovaly antimikrobiální účinnost testovanou na bakteriích a houbách²⁵.

Výjimečné postavení taxonu ve výživě člověka je a bude jistě hlavním důvodem dalšího výzkumu jeho metabolomu a proteomu. Následné hodnocení biologické aktivity jejich složek může přinést i podporu pro další známá etnobotanická a etnofarmakologická fakta, či nové poznatky využitelné ve farmakoterapii.

Práce byla podporována grantem GAUK 118/2006/B BIO.

LITERATURA

- Valíček P., Hlava B., Holubová K., Hušák S., Kokoška L., Matějka V., Michl J., Pavel L., Polesný Z., Wróblewska E., Zelený V.: *Užitkové rostliny tropů a subtropů*, 2. vydání, str. 127. Academia, Praha 2002.
- Hendrych R.: *Systém a evoluce vyšších rostlin*, str. 371. SNP, Praha 1977.
- Bremness L.: *Bylinář*, str. 76. Fortuna Print, Praha 2004.
- Bruneton J.: *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*, str. 135. Technique & Documentation-Lavoisier, Paris 1995.
- De Leonardis A., Macciola V., Di Domenico N.: *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 107, 220 (2005).
- Český lékopis 2002*, 3. díl, str. 2812. Grada Publishing, Praha 2002.
- Jahodář L., Klečáková J.: *Chem. Listy* 93, 320 (1999).
- Alfatafta A. A., Mullin C. A.: *Phytochemistry* 31, 4109 (1992).
- Pyrek J. St.: *J. Nat. Prod.* 47, 822 (1984).
- Ghisalberti E. L.: *Fitoterapia* 68, 303 (1997).
- Picman A. K., Schneider E. F., Gershenzon J.: *Bioch. Systematics Ecol.* 18, 325 (1990).
- Pyrek J. St.: *Tetrahedron* 26, 5029 (1970).
- Satoh A., Utamura H., Ishizuka M., Endo N., Tsuji M., Nishimura H.: *Biosci. Biotech. Biochem.* 60, 664 (1996).
- Morris B. D., Foster S. P., Grugel S., Charlet L. D.: *J. Chem. Ecol.* 31, 89 (2005).
- Plohmann B., Bader G., Hiller K., Franz G.: *Pharmazie* 52, 12 (1997).
- Bader G., Plohmann B., Hiller K., Franz G.: *Pharmazie* 51, 6 (1996).
- Schulz S., Arsene C., Tauber M., McNeil N. J.: *Phytochemistry* 54, 325 (2000).
- Ukiya M., Akihisa T., Tokuda H., Koike K., Takayasu J., Okuda H., Kimura Y., Nikaido T., Nishino H.: *J. Agric. Food Chem.* 51, 2949 (2003).
- Ukiya M., Akihisa T., Tokuda H., Koike K., Kimura Y., Asano T., Motohashi S., Nikaido T., Nishino H.: *J. Nat. Prod.* 66, 1476 (2003).
- Bader G., Zieschang M., Wagner K., Grundemann E., Hiller K.: *Planta Med.* 57, 471 (1991).
- Bell E. A., Cherlwood B. V.: *Secondary Plant Products*. Springer Verlag, Berlin 1980.
- Murray R. D. H., Méndez J., Brown S. A.: *The Natural Coumarins: Occurrence Chemistry and Biochemistry*. J. Wiley and Sons, Chichester 1982.
- Macías F. A., Torres A., Galindo J. L. G., Varela R. M., Álvarez J. A., Molinillo J. M. G.: *Phytochemistry* 61, 687 (2002).
- Macías F. A., López A., Varela R. M., Torres A., Molinillo J. M. G.: *Phytochemistry* 65, 3057 (2004).
- Macías F. A., Molinillo J. M. G., Chinchilla D., Galindo J. C. G.: *Allelopathy* 16, 103 (2004).
- Macías F. A., Varela R. M., Torres A., Molinillo J. M. G.: *Phytochemistry* 34, 669 (1993).

27. Macías F. A., Varela R. M., Torres A., Molinillo J. M. G.: *J. Nat. Prod.* 62, 1636 (1999).
28. Macías F. A., Molinillo J. M. G., Varela R. M., Torres A., Fronczek F. R.: *J. Org. Chem.* 59, 8261 (1994).
29. Macías F. A., Oliva R. M., Varela R. M., Torres A., Molinillo J. M. G.: *Phytochemistry* 52, 613 (1999).
30. Macías F. A., Varela R. M., Torres A.: *Tetrahedron Lett.* 40, 4725 (1999).
31. Macías F. A., López A., Varela R. M., Molinillo J. M. G., Alves P. L. C. A., Torres A.: *Tetrahedron Lett.* 45, 6567 (2004).
32. Melek F. R., Gage D. A., Gershenzon J., Marby T. J.: *Phytochemistry* 24, 1537 (1985).
33. Spring O., Albert K., Gradmann W.: *Phytochemistry* 20, 1883 (1981).
34. Spring O., Albert K., Hager A.: *Phytochemistry* 21, 2551 (1982).
35. Spring O., Benz T., Ilg M.: *Phytochemistry* 28, 745 (1989).
36. Macías F. A., Torres A., Galindo J. L. G., Varela R. M., Álvarez J. A., Molinillo J. M. G.: *Phytochemistry* 48, 631 (1998).
37. Macías F. A., López A., Varela R. M., Torres A., Molinillo J. M. G.: *Phytochemistry* 65, 3057 (2004).
38. Macías F. A., López A., Varela R. M., Torres A., Molinillo J. M. G.: *Tetrahedron Lett.* 37, 7023 (2003).
39. Macías F. A., López A., Varela R. M., Torres A., Molinillo J. M. G.: *Tetrahedron Lett.* 39, 427 (1998).
40. Macías F. A., López A., Varela R. M., Torres A., Molinillo J. M. G., Castellano D.: *Phytochemistry* 45, 683 (1997).

Z. Řeháková, J. Karličková, and L. Jahodář
(*Department of Pharmaceutical Botany and Ecology, Faculty of Pharmacy, Charles University, Hradec Králové*):
Sunflower – Substances and Their Biological Activity

The sunflower is a rich source of compounds with various biological activities such as plant-growth regulatory, anti-inflammatory, antimicrobial, inhibitory in Epstein-Barr virus (EBV) activation, etc.). These compounds were isolated from different parts of sunflowers (leaves, radial flowers, pollen). Sesquiterpene lactones (germacranolides) isolated from leaves of sunflower have shown antimicrobial activities. Sterols, triterpenic alcohols and alkane-6,8-diols showed significant anti-inflammatory and cancerogenic effects against some phorbol tetradecanoate derivatives. In addition, the terpenoids and lipids isolated from the sunflower pollen exhibited potent inhibitory effects on EBV antigen induction.

VÝVOJ NOVEJ GENERÁCIE ENVIRONMENTÁLNYCH ADSORBENTOV A BOKOMPOZITOV NA BÁZE PRÍRODNÝCH NANOMATERIÁLOV

EVA CHMIELEWSKÁ

*Katedra ekozozológie a fyziotaktiky Prírodovedeckej fakulty Univerzity Komenského, Mlynská dolina, 842 15 Bratislava, Slovenská republika
chmielewska@fns.uniba.sk*

Došlo 11.9.06, prepracované 6.4.07, prijaté 14.12.07.

Kľúčové slová: kompozit, hybridizovaný adsorbent, iónomenič, prírodný zeolit, klinoptilolit, hydrofobizácia, nanomateriály, uhlíkové nanotuby, vláknité iónexy, organicko-anorganické adsorbenty, makromolekulárne substráty, polysacharidy

Obsah

1. Úvod
2. Chronológia vývoja adsorbentov a iónomeničov
3. Perspektívne nanomateriály pre ochranu vôd: uhlíkové nanotuby (CNT), dendriméry a zeolity
4. Potenciálne možnosti hybridizácie resp. prípravy kompozitných adsorbentov na báze prírodného zeolitu
5. Vývoj inovatívnych adsorbentov na báze domáceho prírodného klinoptilolitu

1. Úvod

Pod pojmom nanotechnológia sa chápe dizajn, charakterizácia, produkcia a využitie štruktúry, zariadení a systémov, ktorých veľkosť a tvar spadá do rozmerov veľkosti nanometrov. Nanokompozity sú polyméry zložené z častíc, u ktorých aspoň jeden rozmer tejto častice je na úrovni nanometrov. Známe sú 3 typy nanokompozitov v závislosti od dispergovaných častíc o nanometrových rozmeroch.

K prvej skupine patrí napr. priestorová štruktúra kremeňa, nanočastice kovov dispergované napr. vo vodnom prostredí alebo klastery ich atómov imobilizované na povrchu konvenčných adsorbentov, ale aj v 80. rokoch 20. stor. objavené fullerény (tretia alotropická modifikácia uhlíka, po grafitu a diamante, ktorá najčastejšie pozostáva zo 60 atómov C v tvare futbalovej lopty, je dutá, s veľkosťou 1 nm).

K druhej skupine patria nanovlákná (2 rozmery majú v nanometrovej veľkosti a tretí vytvára veľkú pozdĺžnu štruktúru, akú majú uhlíkové tuby alebo celulózoové vlákna, ktoré sa intenzívne študujú pre ich výnimočné vlastnosti pri vystužovaní materiálov).

Tretí typ nanokompozitov je charakterizovaný len jedným nanometrovým rozmerom. V tomto prípade sú materiály vo forme vrstiev o hrúbke nano-rozmerov (polymérno vrstevnaté kryštalické nanokompozity, napr. ako sú modifikované zeolity)^{1–5}.

Objav stabilných uhlíkových molekúl C₆₀ a C₇₀ bol pravdepodobne prvý krát zverejnený v práci Krota a spol.². Často sa v literatúre pripisujú zásluhy nositeľovi Nobelovej ceny fyzikovi Richardovi Smalleymu z Univerzity v Rice (od roku 1991)².

História objavu uhlíkových nanotub (CNT), u ktorých sa doposiaľ uvádza asi 56 modifikácií, je komplikovanejšia. I keď viac-menej vedecká komunita považuje za objaviteľa uhlíkových nanotub japonského autora S. Iijimu¹, uhlíkové nanovlákná získal údajne termickým rozkladom metánu už Edison asi pred 200 rokmi a plánoval ich na výrobu žiaroviek.

V 40. rokoch minulého storočia, keď predovšetkým firma Siemens značne zdokonalila transmisný elektrónový mikroskop, textúra a morfológia CNT bola pravdepodobne prvý krát publikovaná ruskými autormi v roku 1952, avšak kôli studenej vojne, neanglickému textu, či databáze, ktorá nebola sledovaná anglofónnou vedeckou komunitou, sa o tom dozvedáme až dnes v práci Monthiouxa³.

Je však otázne, prečo v publikácii S. Iijimu nie sú spomenuté (a boli teda mnohé!) žiadne predchádzajúce práce týkajúce sa CNT. Vysvetlenie možno nájsť snáď v domnienke, že dobová materiálová chémia, ktorá skúmala predovšetkým mechanizmus rastu kryštálov pre priemernú výrobu ocele alebo chladiče jadrových reaktorov, nebola pre fundamentálneho fyzika dostatočne zaujímavá. Iné vysvetlenie je všeobecnejšie a dotýka sa zrelosti na tú dobu nanovedy. Možné sú tiež pochybnosti o správnom materiálovom, experimentálnom, či teoretickom vybavení a následných interpretáciách objavu³.

Naopak, práca S. Iijimu z roku 1991 zanechala vo svete obrovský ohlas. Zrodila sa za priaznivých faktorov – publikácia vysokej kvality, prestížny vedecký časopis sledovaný veľmi širokým okruhom odborníkov, predom objavené fullerény v hierarchii na porovnateľnej svetovej úrovni a vedecká komunita už „naladená“ na nanotechnológiu¹.

Pojem nanotechnológia sa obvykle spája s aplikáciami pre biomedicínu, telekomunikácie a vojenské účely. Avšak pre väčšinu ľudí je hlavný prínos vedy nanometrových rozmerov v revolučnom vývoji cementu, s ktorým človek prichádza každodenne do styku. Vývoj produkcie tohto stavebného materiálu vzhľadom na svoj environmentálny dopad má enormný sociálny a ekonomický význam. Výrobu tohto produktu možno kvantifikovať ako jednu z najrozsiahljších akú ľudstvo pozná a globálne vyjadriť ako 1 m³/r/obyvateľ Zeme.

Očakáva sa teda, že „nanotech“ vytvorí vývojom zo

submikroskopického sveta v budúcnosti taký makrosvet, v ktorom sa environmentalizáciou produktov a celkového života a existencie ľudstva dosiahnu aj obrovské makroekonomické prínosy.

Snáď najlepším príkladom toho je pokrok v biomedicíne a výroba biosenzorov, biomarkerov, nanotech tkanív, nosičov biodetektorov pre diagnózu a terapiu rakoviny, biokompozitných implantátov, transportných nosičov liekov, laserových priepustných a ochranných povlakov pre rakovinové bunky a iných prípravkov^{9–11}.

Nanotechnológie študujú hmotu v rozsahoch ultramalyých nanometrových rozmerov (obyčajný ľudský vlas má približne 80 μm). Nanotechnológie v súčasnosti predstavujú priemyselnú revolúciu, pretože majú čistejšie, bezpečnejšie a konkurenejšie výrobné programy a pripravujú progresívnejšie, trvalejšie a ekologicky šetrnejšie výrobky, čo je v súlade s myšlienkami trvalo udržateľného rozvoja života na Zemi^{12–15}.

Chronológia vývoja adsorbentov a iónomeničov

I keď predhistorický človek údajne využíval prírodný anorganický materiál na úpravu vody, nemal žiadne vedomosti o iónovej výmene. Sú totiž zachované snahy o úpravu vody z obdobia pred asi 5000 rokov (staroveký Egypt) a neskôr zo starovekého Ríma asi pred 2000 rokov.

Zo starých análov sa najčastejšie spomína spis, ako Aristoteles upravoval brakickú a morskú vodu cez isté druhy pieskov a pravdepodobne zeolitový minerál, aby znížil jej mineralizáciu. Až v roku 1850 bol princíp iónovej výmeny opísaný ako vedecký fenomén anglickými bádateľmi Thompsonom a Wayom, ktorí ho objavili na základe rozboru alkalických pôd. Detailnejšia identifikácia pôd sa podarila hlavne Lambergovi a neskôr Wiegnerovi, ktorí v nich zistili prítomnosť ílov, glaukonitu, zeolitu a humínových kyselín.

V roku 1903 dvaja nemeckí chemici Harms a Rupler sa pokúsili ako prví priemyselne vyrábať iónomeniče predovšetkým na úpravu vody, v roku 1917 údajne Follin a Bell ako prví použili zeolit na odstraňovanie amoniaku z moču. Významné zásluhy v rozvoji iónovej výmeny a úprave vody zmäkčovaním, odmanganovaním a odželezovaním má nemecký chemik Richard Gans, ktorého patent na úpravu vody odkúpil v roku 1915 aj prominentný japonský podnikateľ M. Masunary, aby začal s priemyselnou aplikáciou iónexov na úpravu vody. Richard Gans získaval údajne i zlato z morskej vody pomocou upraveného prírodného zeolitu. Z uvedených historických análov by bolo vhodné spomenúť ešte anglických chemikov Adamsa a Holmesa, ktorí v roku 1935 objavili vlastnosti iónomeničov na materiáli z rozbitej fonografickej platni. Na základe tejto látky sa potom pokúsili pripraviť organickú iónexovu živicu (smolu). Muselo však ubehnúť až 85 rokov, kým sa metóda iónovej výmeny presadila do technickej praxi na zmäkčovanie vody^{16–22}.

V 30. rokoch 20. stor. Barrerova škola v Anglicku a Union Carbide Corporation (UCC) v USA objavili prí-

rodný druh zeolitu chabazit, podľa ktorého UCC plánovala syntetizovať analogický komerčný produkt na separáciu kyslíka a dusíka zo vzduchu. Pripravila však účinnejší produkt a nazvala ho LINDE A. Koncom 40. a zač. 50. rokov Barrerova skupina laboratórne syntetizovala tiež mordenit a zeolity A, X a Y. V súčasnosti poznáme už 51 druhov prírodných zeolitov a okolo 200 synteticky pripravených²³.

Po 2. svetovej vojne došlo k prudkej expanzii výroby najmä syntetických polymérnych iónexov (z ropných uhľovodíkov), ktorých úžitkové vlastnosti, ako veľký adsorpčný povrch s hodnotou nad 1000 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$, hydrofilnosť, reprodukovateľnosť, mechanická a kyselinová odolnosť a postupne výroba nových generácií iónexov so zosilneným sieťovaním (ako kopolymér sa používa spravidla divinylbenzén), prevýšili vlastnosti prírodných adsorbentov resp. iónexov. Syntetické iónexy našli doposiaľ uplatnenie vo viac ako 200 praktických aplikáciách. Tento trend výroby súvisel s rozvojom syntézy chémie a chémie plastov, pričom polykondenzáciu nahrádzala postupne kopolymerizácia (polykondenzáciou sa ešte aj dnes vyrábajú polyamidy a polyestery).

Komerčne známe iónexy sú napr. Lewatit, Wofatit, Dowex, Ostion, Duolit, Zeocarb, Amberlit, Ambersorb a ako najznámejších svetových producentov možno spomenúť Dow Chemicals, Mitsubishi, Merck, Rohm & Haas, Infilco, Philips, Bayer.

Vzhľadom k vysokým výrobným nákladom a s tým súvisiacej cene, environmentálne nepriaznivej petrochemickej výrobe, nižšej odolnosti voči teplote a rozpínavosti vo vode, nezaostával však ani výskum a sprievodné využívanie anorganických minerálnych iónexov resp. adsorbentov predovšetkým pre špecifické prípady, kde sa vyžadovala vyššia radiačná a tepelná odolnosť a cenová dostupnosť. Princiipiálne sú známe nasledovné skupiny anorganických iónexov: hlinitokremičitanové zeolity, smektity, aluminofosfáty kovov, hydratované oxidy viacmocných kovov, fosforečnany zirkónia, cínu, vanádu a antimónu, kondenzované fosforečnany, polyvalentné soli kyselín, titanáty, hexakvanoželeznatany, apatity, sulfidy a sulfáty alkalických zemín, polyvanadičnany, β -alumína, hydrotalcity a iné.

Začiatok 21. stor. možno na základe rozsahu publikovanej literatúry charakterizovať už ako obdobie prechodu syntéz od anorganických k hybridným organicko-anorganickým iónexom so štruktúrne inkorporovanými organickými polymérmi. Dva alebo viaceré materiály kombinované navzájom vytvárajú spravidla nový, ktorý môže vykazovať oveľa lepšie úžitkové vlastnosti ako jeho pôvodné dva. Takýto materiál bol pomenovaný ako kompozitný. Významná funkcia kompozitného materiálu sa pripisuje obzvlášť fázovému rozhraniu, ktorým sa nový kompozit spája tak, aby získal napr. lepšie mechanické vlastnosti a dlhšiu životnosť^{18,19}.

Keď sú kompozity kombinované z anorganických materiálov a organických polymérov, vznikajú vysoko účinné alebo vysoko funkčné organicko-anorganické hybridy s vlastnosťami blízkym plastom a keramike. Na anor-

ganické iónexové matrice možno imobilizovať organické polyméry, ako sú polyanilín, polyakrylonitril, kyselina polyakrylová, polystyrén, aby sa získali spomínané hybridy s vylepšenými úžitkovými vlastnosťami (napr. s vhodnejšou granulometriou alebo pórovitosťou vytvorenou sieťovacím polymérnym činidlom či sfunkčenie aktívneho povrchu pomocou kyseliny sulfónovej, karboxylovej alebo organickými amínmi). Takto boli pripravené napr. arzeničnan pyridinio-wolfrámový, sulfosalicyklofosforečnan zirkoničitý alebo fosforečnan zirkoničitý s imobilizovaným styrénom^{17–19}.

V súčasnosti sa vlákňité iónexy považujú za jedny z najprogressívnejších materiálov pre procesy separácie plyných alebo kvapalných médií, pretože môžu byť vyrobené v rôznych podobách v závislosti od aplikácií, napr. pre filtre rozomleté, vertikálne visiace alebo v horizontálnych vrstvách, zabudované do dopravníkových pásov, plávajúcich rohoží, sanačných sietí, oblekov alebo nanosené ako membrány, čo značne rozširuje možnosti ich využitia. Pozostávajú z jednotlivých vlákien veľkosti od 5–50 μm , čím sa dosahujú podstatne priaznivejšie difúzne koeficienty a kinetické veličiny procesu (asi 100 násobne výhodnejšie než pri granulovaných iónexoch s priemerom granúl od 0,25 do 1,0 mm). Okrem toho sú extrémne stabilné voči osmotickému šoku, čo sa využíva pri mnohonásobnom opakovaní zmáčania a sušenia (čistenie dymových plynov) alebo sorpcii a regenerácii, počas ktorej si na rozdiel od konvenčných styren-divinylbenzénových granulovaných iónexov zachovávajú stabilné zloženie funkčných skupín a vyššiu elasticitu^{14–16}.

Spomedzi dosiaľ publikovaných syntéz týchto iónexov možno uviesť napr. zakotvenie polystyrénu (PS) na polypropylénové (PP) vlákna pri laboratórnej teplote, pričom PS bol v organickom rozpúšťadle schopný generovať voľné radikály počas ožarovania PP matrice. Zakotvenie funkčných skupín na maticu vyžadovalo až 6-násobný prebytok činidla, aby sa dosiahla vysoká iónovymenná kapacita. Zvýšením kapacity sa však znižovala mechanická integrita a zhoršovali sa mechanické a elastické vlastnosti vlákien. Štruktúra vlákien taktiež závisí od spôsobu prípravy a typu východiskového (zakotveného) polyméru. Mali by byť viac-menej pórovité, s dostatočnou mechanickou integritou. Vlákňité iónexy sa vyrábajú spravidla zakotvením funkčného polyméru, ktoré sa iniciuje ožiarením, do puzdra kompozitného vlákna zloženého okrem samotného puzdra i z centrálneho jadra.

Borell²³ syntetizoval iónexy zo zosieťovaných polyakrylonitrilových (PAN) vlákien, na ktoré zakotvil terciárne amíny, tetrahydropirimidín, imidazolín a kvartérne amóniové skupiny. Takéto iónexy dosahovali iónovymennú kapacitu 6,3 mmol g^{-1} . Ivanova²⁴ sa pokúsila pripraviť PAN iónexy modifikované s alkylsiloxánom sodným. Difúzne rýchlosti siloxánových modifikátorov na PAN vlákňach záviseli od veľkosti a typu Si-väzbovej alkylovej skupiny. Táto modifikácia zvýšila kapacitu iónexov z 2 na 5 mmol g^{-1} . Uvedené iónexy boli žiaľ tepelne a radiačne málo stabilné kôli svojej organickej matici.

Preto sa vyvinuli nové tzv. hybridné iónexy, ktoré

majú vlastnosti jednak organických polymérov, ale aj anorganických vlákňitých materiálov²⁵. Fosforečnan céričitý je pravdepodobne prvým vlákňitým anorganickým iónexom, syntetizovaný Albertim a spol.^{26,27} v roku 1968. Za ním sa syntetizoval vlákňitý fosforečnan thória, ktorý sa ukázal ako veľmi zaujímavý, pretože prejavil tendenciu vytvárať flexibilné vrstvy, podobne ako je tomu u papiera z celulózy. Tieto anorganické iónexy sú vhodné na výrobu tenkých chromatografických vrstiev, papierov a membrán bez použitia pojív. Kvôli svojej vysokej selektivitě a pevnosti sa takéto membrány používajú na výrobu iónovoselektívnych elektród alebo v palivových článkoch a katalyzátoroch, pretože sú odolné aj voči vysokým teplotám. Zistilo sa však, že anorganické iónexy dosahujú vysokú iónovymennú kapacitu na úkor straty vhodných mechanických vlastností (pevnosti v ťahu) a obtiažne sa zvlákňujú. Boli pripravené mnohé selektívne vlákňité i nevlákňité hybridné iónexy, ako napr. fosforečnan céričitý alebo fosforečnan thória na báze akrylonitrilu, fosforečnan zirkónia a fosforečnan céričitý na báze akrylamidu a iné.

3. Perspektívne nanomateriály pre ochranu vôd: uhlíkové nanotuby (CNT), dendriméry a zeolity

Pokrok vo vede a technike a využívaní nanotechnológií a nanomateriálov je viditeľný aj pre oblasť ochrany vôd, pretože sa vyvíjajú moderné, ekonomicky únosné a environmentálne akceptovateľnejšie čistiarenské procesy a materiály. Poznáme štyri typy nanomateriálov určených pre tieto procesy: (1) oxidy kovov, (2) uhlíkaté materiály, (3) dendriméry a (4) zeolity. Všetky majú veľmi pestré fyzikálno-chemické vlastnosti, ktoré sú vhodné obzvlášť na separáciu polutantov resp. reakciu vo vodách a v kvapalných médiach. Špecifické látky nanometrovej veľkosti nanosené ako membrány alebo v podobe iných štruktúrovaných materiálov sú pre čistiarenské procesy veľmi perspektívne, lebo majú vyšší adsorpčný povrch a možno ich upraviť inkorporovaním funkčných skupín (napr. použitím multivrstvových nanotúb sa kapacita k niektorým ťažkým kovom zvýšila 3 až 4× oproti kapacite konvenčného práškoveho alebo granulovaného aktívneho uhlia). Podobné výsledky sa zaznamenali nanosením chitosanového gélu na 3-polyfosfáty^{28–32}.

Zeolity si už dávnejšie získali svoje miesto ako efektívne adsorbenty resp. iónexy. Syntetický zeolit typu NaP má vysokú hustotu vymeniteľných Na^+ iónov a tým aj kapacitu. Môže byť nenáročne syntetizovaný hydrotermálnou aktiváciou ťetov a popolovín pri 150 °C pôsobením 1–2 M-NaOH roztokov.

Rozvoj makromolekulárnej chémie prispel aj k rozvoju ultrafiltrácie a syntézy nových funkčných membrán vyrábaných z dendritických polymérov, ktoré možno pomerne ľahko regenerovať len znížením pH roztokov (pH 4). Dendriméry (z gréckeho slova dendron t.j. strom) sú komplexné makromolekulárne látky s charakteristickou,

regulárnou trojrozmernou architektúrou, pozostávajúce z jadra, rozvetvenia (dendrónov) a koncových skupín. Prvý krát boli syntetizované v roku 1979 Tamaliom a spol. v Dow Chemical Company. Jeho prvým dendrimérom, ktorý bol rozsiahlejšie študovaný a získal pozoruhodný záujem vo svete bol polyamido-aminový dendrimer (PAMAM). Pri týchto látkach dominujú vlastností koncových funkčných skupín a veľkého molekulárneho povrchu. Majú veľmi flexibilné štruktúry, ktoré sa vyznačujú kompletnou zmenou svojich konformácií od vrstevnatých, cez globulárne až k samovytvárajúcim štruktúram lipidov. I keď sú známe viac ako 20 rokov, iba nedávno sa začalo s ich imobilizáciou na rôzne povrchy nosičov, pretože v dôsledku ich rýchlo meniacej veľkosti a multifunkčnosti sú *a priori* vhodné na výrobu rôznych povrchovoaktívnych produktov^{29–31}.

Supramolekulárne produkty s charakteristickou veľkosťou 1–100 nm v podobe klasterov, makromolekul, nanočastíc a koloidov prejavujú značný vplyv na kvalitu vodného prostredia, pretože prispievajú k separácii, chemickým reakciám vo vodách, k bioakumulácii a mobilite kontaminantov. Wu³³ syntetizovala napr. celulózo-ocetátové membrány vhodné pre dispergovanie Fe(0) klasterov, ktoré boli určené pre dechloráciu trichlóretylénu (TCE) z vôd. Fe(0) koloidy sa pripravili vo vodno-olejovej mikroemulzii zmiešaním s acetónovým roztokom octanu celulózy a následne imobilizovali do pórovitej membrány.

V mnohých prípadoch nové syntézy produktov sledujú istú imitáciu prírody.

4. Potenciálne možnosti hybridizácie resp. prípravy kompozitných adsorbentov na báze prírodného zeolitu

Progres dosiahnutý v oblasti výskumu a využitia prírodných zeolitov vo svete je pozoruhodný.

Táto komodita nadobúda opäť zvýšený záujem na trhu predovšetkým pre vývoj nových zeolitových produktov s upraveným extérom povrchom, zeolitové hybridné kompozity, ale aj ľahké puzolánové cementy v stavebníctve. Prírodný zeolit tak možno na základe jeho vlastností považovať spomedzi ostaných prírodných minerálov právo za bezkonkurenčný.

Produkcia zeolitov vo svete je v súčasnosti cca 3 mil ton ročne (z toho len v Číne asi 2 mil ton; Slovensko je v poradí na 8. mieste s produkciou 25 000 t rok⁻¹). V USA pri produkcii 60 000 t rok⁻¹ je využitie tohto produktu v zmysle klesajúceho odberu nasledovné²⁸:

- prídavok do kŕmnych zmesí pre živočíšnu výrobu,
- úprava vôd,
- drobnochovateľstvo (tieto tri oblasti odoberajú spolu až 70 % produkcie),
- nosiče fungicídov a pesticídov,
- pôdne kondicionéry a podporné rastové média,
- desikanty (vysušovadlá),

- odpachovače,
- absorbenty olejov a plynov,
- čistenie vôd,
- akvaristika,
- produkcia heterogénnych katalyzátorov.

Environmentálne adsorbenty novej generácie t.j. také, ktoré preferujú prírodné matrice ako nosiče funkčných skupín vrátane prírodného zeolitu, sa pripravujú zväčša mokkými chemickými postupmi, ako sú sól-gél metódy, kedy napr. organický kation (templát) ako kopolymér môže vyrovnávať mezopórovitú štruktúru nosiča (templátovanie povrchu), interplanárnou interkaláciou, povrchovou impregnáciou alebo imobilizáciou biopolymérnych látok a vhodných chemických činidiel, ktoré interagujú s maticou prostredníctvom vakantných alebo donorových reakčných centier, adhézných, komplementárnych a iných špecifických a nešpecifických síl^{30,33}.

Polysacharidy, ktoré vykazujú výbornú zvrátnosť vo vode, sú vhodné na výrobu kontaktných membrán nanášaných na povrch, čím môžu zlepšiť mechanické vlastnosti nosiča, zvýšiť jeho chemickú stabilitu prípadne exponovať amfotérne vlastnosti tohto nosiča ako adsorbenta. Fázové rozhranie imobilizované na povrch vo forme filmu môže zvýšiť plochu rozhrania, zvyšuje difúzny koeficient prestupu látok, spravidla sa vyznačuje vyššou selektívnosťou, integruje viaceré separačné funkcie (napr. extrakciu a stripovanie) v aplikačných procesoch prípadne môže synergovať sitový efekt. Kontaktné (kvapalné) membrány sa na tuhý nosič nanášajú tak, aby sa pri čo najtenšej vrstve filmu zachovala jeho mechanická integrita^{5–15}.

V našom prípade sme na imobilizáciu takýchto kontaktných membrán na zeolit použili komerčne dostupné polysacharidy algináty (holandský produkt PROTANAL XLRB). Tie sa spravidla nanášajú na extérom povrch zeolitu buď pevným zakotvením t.j. chemickou reakciou pravdepodobne polysacharidu (alginátu sodného) s vymeniteľnými (povrchovo prístupnými) kationmi za vzniku stálega, vo vode rezistentného alginátu vápenatého (chemical derivatization).

Druhý variant je podstatne jednoduchší a spočíva vo fyzikálnom povlakovaní povrchu nosiča tak, že po určitom čase kontaktu obidvoch zložiek v kvapalnej fáze, sa kvapalina odstraňuje vyparením (najčastejšie pri bežnej teplote). Rôzne fyzikálno-chemické podmienky prípravy vytvárajú finálne adsorbenty s hydrogélovým povrchom s veľmi širokou variabilitou vlastností a so zvýšenou adhéznosťou k polutantom.

Inou alternatívou nanášania polysacharidov na zeolitový nosič sú rádiochemické techniky, a to využitím iónizujúceho, gamma alebo mikrovlňového žiarenia, laseru príp. konvenčnej radikálovej polymerizácie.

Extérom povrch vhodných nosičov sa môže modifikovať tiež nanášaním epitaxných vrstiev, pričom textúrované nosiče podmieňujú často orientujúci rast nanesených kryštálov na povrchu. Zeolit môže slúžiť buď ako nosná matrica pre svoj veľký špecifický povrch na imobilizáciu takýchto vrstiev, alebo naopak môže sa samotný imobilizovať

zovať na iný nosič v podobe anorganickej zeolitovej membrány (s využitím hydrotermálnej syntézy alebo rastom kryštálov).

Imobilizované membrány môžu byť teda keramické alebo polymérne a pórovité alebo hydrogélové. Ako potenciálna možnosť kombinácie a prípravy kompozitov, ktoré predstavujú istý druh kombinovaných adsorbentov, sa považujú duté polypropylénové (PP) vlákna z chemických polymérov aditívne práškovým anorganickým zeolitom.

Pokryvanie vonkajšieho povrchu zeolitu uhlíkom je istá analógia prípravy niektorých priemyselných typov aktívneho uhlia, ktoré sa vyrábajú z molekulových sít karbonizáciou vybraných polymérov (napr. polyfenylénov pre komerčné produkty Saran). Týmto postupom sa nanáša na povrch amorfný uhlík. I v minulosti sa pyrouhlík a pyrografit využíval ako biologicky znášateľný, antitrombogénny materiál pre výrobu rôznych preparátov v medicíne a farmácii a syntetické PAN vlákna o priemere asi 10 μm sa dĺžili a karbonizovali, pretože v tejto podobe získali ušľachtilejšie vlastnosti ako pružnosť, pevnosť, tepelnú odolnosť a ľahkosť^{34–40}.

Prírodné nanomateriály, podľa najnovších trendov výskumu (ako sú oxihydroxidy Fe, Al a Mn, zeolity, bentonity, kaolíny a alginity, diatomické íly, polovypálený dolomit), ale tiež uhlie spájaním do kompozitných adsorbentov, ako je napr. komerčne dostupný produkt (Slovakite), spravidla synergujú efekt použitých minerálov (spájanie cementovou pastou a tlakom).

5. Vývoj inovatívnych adsorbentov na báze domáceho prírodného klinoptilolitu

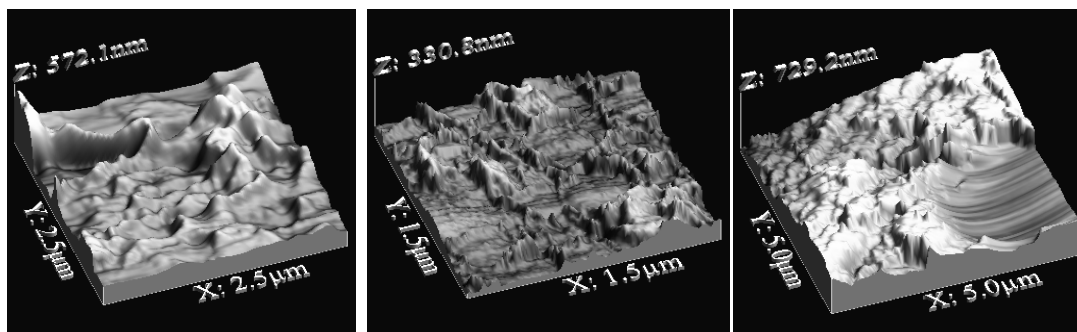
Vzhľadom k tomu, že Slovensko je krajina mimoriadne bohatá na kvalitné prírodné zeolity (druh klinoptilolit), avšak chudobná na fosilné zdroje (odkázaná na dovoz), bolo potrebné sa perspektívne zamerať na intenzívnejšie zhodnocovanie domácich prírodných zdrojov a zvýšiť ich pridanú hodnotu. Zeolit ako nosná matica spĺňa náročné kritéria na výrobu spomínaných hybridizovaných adsorbentov a súčasne podporuje trvalo udržateľný rozvoj

a environmentalizáciu výroby, lebo substráty nanášané na vonkajší povrch zeolitu sú v rámci nášho doterajšieho výskumu biokompatibilné a šetrné k životnému prostrediu.

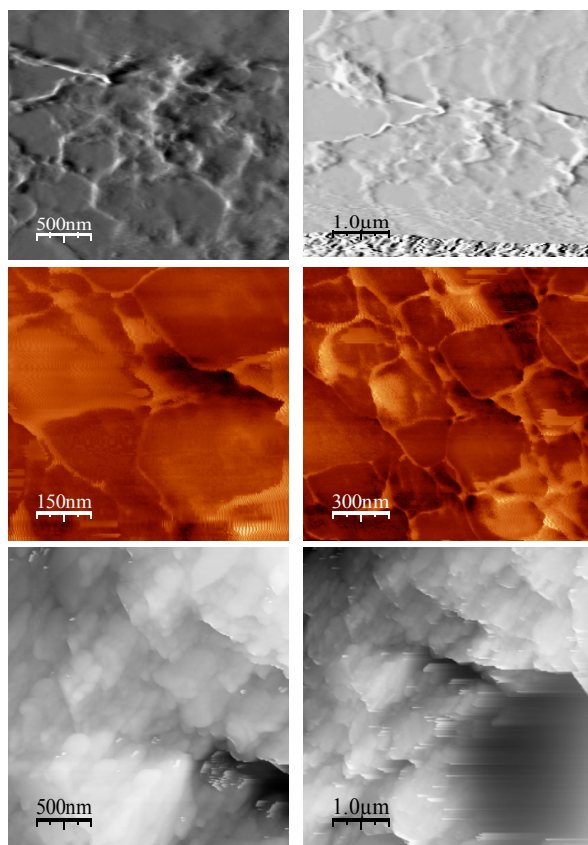
Primárny oktadecylamín (ODA), ktorý sme použili na hydrofobizáciu zeolitu, je u nás komerčne a ekonomicky prístupným kationaktívnym tenzidom, ktorý sa dlhodobo používal v Rudných baniach, závod Kremnica na hydrofobizáciu bentonitu „Stará Kremnička – Jelšovský Potok“. Zeolit je navyše v porovnaní s bentonitom vhodnejším adsorbentom pre svoje priaznivejšie hydrodynamické vlastnosti. Organické amóniove skupiny možno na extérny povrch zeolitu imobilizovať podľa účelu buď ako jedno-, alebo dvojvrstvu (tzv. adsorpčnú micelu), pričom monoméry organického amínu vzájomnou interakciou dokážu dostatočne účinne viazať toxické anióny kovov z vôd (elektrostatický charakter väzby)^{35,38}.

Iným nami študovaným prípadom imobilizácie látok bohatých na organický uhlík na povrch prírodného zeolitu bola karbonizácia v pyrolyznej peci (nízkoteplotná oxidácia rastlinného materiálu). Cieľom bolo opäť pripraviť organicko-anorganický kompozit, v ktorom nosnú maticu vytváral prírodný zeolit (klinoptilolit) obohatený na vonkajšom povrchu o nové nanometrové (mezo- a makropórovité) vrstvy z prevažne amorfného organického typu uhlíka (objavené boli aj multivrstvové uhlíkové nanotuby). Tým sa pôvodná vlastnosť mikropórovitého polárneho nosiča priblížila k vlastnostiam aktívneho uhlia, t.j. k tradičnému nepolárnemu hydrofílnemu adsorbentu, ba navyše obohateného o CNT.

Polyelektrolyty a biopolymérne látky (ako napr. škrob, celulóza, tenzidy) sa bežne používajú pre intenzifikáciu procesov koagulácie a čistenia vody, lebo sú schopné adhéznou silou a rôznymi špecifickými a nešpecifickými interakciami adsorbovať koloidné nečistoty. Taktiež prírodné íly sú pomerne časté pomocné koagulačné prostriedky pri tejto úprave prevažne povrchových (zakalených alebo sfarbených) vôd. Naším cieľom bolo teda synergizovať efekt obidvoch zložiek tak, aby sa indukoval veľký aktívny povrch jednak zeolitu ako nosiča reaktantov a navyše aby sa využila funkčnosť i samotného imobilizovaného komponentu vytvárajúceho extérnu fázu nosiča. Z biopolymérnych preparátov sme na imobilizáciu použili



Obr. 1. Topografia povrchov cez AFM (zľava do prava): zeolit s imobilizovaným polysacharidom, s karbonizovaným a hydrofobizovaným povrchom



Obr. 2. Snímky AFM (zhora nadol): polysacharidový, karbonizovaný a hydrofóbizovaný zeolit

i polysacharid alginát, ktorý sa získava z makroskopických hnedých rias (algae Phaeophyta) vyskytujúcich sa v morských pobrežných vodách a bežne sa používa ako ztužovadlo krémov, kozmetiky, zmrzlín a iných produktov.

Na základe dostupných analytických metód sme skúmali charakter (väzbovosť) interfaciálnych funkčných skupín vo vzťahu k zeolitu a adsorbovaným polutantom (FT IR, Raman, SEM, TEM, TG, XPS, NMR, XRD, SIMS, AFM a iné). Snímky z atómového silového mikroskopu (AFM), ako vidieť z obr. 1 a 2 veľmi presvedčivo dokumentujú typ imobilizovaného preparátu a mikrotopografiu študovaného zeolitového nosiča (reťazce glykánov vytvárajú kruhy, charakteristické šupinky grafitické kryštaly a ODA reťazce sú penetrované kolmo do kanálov nosiča s nahor orientovanými aminovými skupinami). Na štúdium topológie takýchto hybridizovaných adsorbentov sa preferujú zväčša mikroskopické techniky.

Dá sa teda očakávať, že dynamika vývoja nových adsorbentov bude v budúcnosti smerovať do oblasti využitia domácich zdrojov, recyklácie a ekologizácie surovín.

LITERATÚRA

- Iijima S.: *Nature* 354, 56 (1991).
- Kroto H. W., Heath J. R., O' Brien S. C., Curl R. F., Smalley R. E.: *Nature* 318, 162 (1985).
- Monthieux M., Kuznetsov V. L.: *Carbon* 44, 1621 (2006).
- Dag S., Gülseren O., Ciraci S., Yildirim T.: *Appl. Phys. Lett.* 83, 3180 (2003).
- Nam J. M., Thaxton C. S., Mirkin C. A.: *Science* 301, 1884 (2003).
- Pan Z. W., Dai Z. R., Wang Z. L.: *Science* 291, 1974 (2001).
- Strano M. S., Dyke C. A., Usrey M. L., Barone P. W., Alen M. J., Shan H.: *Science* 301, 1519 (2003).
- Yu Y. H., Lin C. Y., Yeh J. M., Lin W. H.: *Polymer* 44, 3553 (2003).
- Zhang W. X.: *J. Nanoparticle Res.* 5, 323 (2003).
- Tonellini R.: *EurActiv*, 2000–2005, (<http://www.euractiv.com>), apríl 2006.
- Drexler K. E.: *Engines of Creation – The Coming Era of Nanotechnology*. Anchor Press, Doubleday, New York 1986.
- Freitas R. A.: *Some Limits to Global Ecophagy by Biovorous Nanoreplicators with Public Policy Recommendation*, 2000; www.foresight.org/nano/Ecophagy.html, apríl 2006.
- Anissimov M.: *More Danger from Molecular Nanotechnology*, 2004; http://en.wikipedia.org/wiki/English_Wikipedia, apríl 2006.
- Bielawski C. W., Benitez D., Grubbs H.: *Science* 297, 2041 (2002).
- The Revolution; Part 3: Ultrafines, Rachel's Environment and Health News*, 2003; www.hazardous.org/nanotech/safety.htm, máj 2006.
- Rosenberg L.: *Nature* 440, 749 (2006).
- Baraton M.: *Synthesis, Functionalization and Surface Treatment of Nanoparticles*, 2006; <http://www.nanotechnology.com>, apríl 2006.
- Donlan R. M.: *Emerg. Infect. Diss.* 8, 822 (2002).
- Trachov N.: *J. Sci. Technol.* 26, 109 (2004).
- Chen J.: *J. Adhes. Sci. Technol.* 17, 409 (2003).
- Crini G., Morcellet M.: *J. Sep. Sci.* 25, 789 (2002).
- Crini G.: *Prog. Polym. Sci.* 30, 38 (2005).
- Čejka J., Žilková N.: *Chem. Listy* 94, 278 (2000).
- Dwan'isa J. P., Mohanty A. K., Misra M., Drzal L. T., Kazemizadek M.: *J. Mater. Sci.* 39, 1887 (2004).
- Gross R. A., Kalra B.: *Science* 299, 822 (2003).
- Varma J., Deshpande S. V., Kennedy J. F.: *Carbohydr. Polym.* 55, 77 (2004).
- Borell P., Harrison P. D., Marriott J. C.: *Eur. Pat. Appl.* EP 194, 766 (Cl BO 1J41/12)15 (1986).
- Ivanova G. V.: *Khim. Volokna* 1, 16 (1987).
- Alberti G., Constantino U.: *Italian Appl.* 36708 A/67, U.S. Patent 5, 744 (1968).

30. Alberti G., Constantino U., Gregorio Di, F. Galli P.: *J. Inorg. Nucl. Chem.* 30, 295 (1968).
31. Virta R. L.: *U.S. Geological Survey, 2005 Minerals Yearbook, Zeolites*, 2006.
32. Chen C. Z. S., Cooper S.: *Biomaterials* 23, 3359 (2002).
33. Savage N., Diallo M. S.: *J. Nanoparticle Research* 7, 331(2005).
34. *Dendrimer*, From Wikipedia, the free encyclopedia, 2006, <http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Dendrimer&printable=yes>, máj 2006.
35. Zao H. T., Nagy K. L.: *J. Coll. Interf. Sci* 274, 613 (2004).
36. *Nanomaterials to 2008*, 2005, <http://www.freedoniagroup.com/Nanomaterials.html>, máj 2006.
37. Deliyanni E. A., Bakoyannakis D. N., Zouboulis A. I., Matis K. A.: *Chemosphere* 50, 155 (2003).
38. Chmielewská E.: *Turk. J. Chem.* 27, 639 (2003).
39. Reháková M., Chmielewská E., Nagyová S.: *Solid State Phenomena* 90, 411(2003).
40. Pilchowski K., Chmielewská E.: *Acta Hydrochem. Hydrobiol.* 31, 249 (2003).
41. Chmielewská E., Jesenák K., Gáplovská K.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 68, 823 (2003).
42. Chmielewská E., Tylus W., Morvová M.: *Cent. Eur. J. Chem.* 4, 1 (2006).
43. Chmielewská E., Pilchowski K.: *Chem. Pap.* 60, 1 (2006).

E. Chmielewská (*Department of Ecosozology and Physiotactics, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava*): **Development of New Generation of Environmental Adsorbents Based on Natural Nanomaterials**

Nanocomposites are polymers filled with particles the dimensions of which are in the nanometer range. Numerous approaches have been studied for the development of cost-effective adsorbents containing natural polymers like polysaccharides or their derivatives based on chitin, chitosan, starch and cyclodextrin. The polysaccharide materials are described and their advantages in the removal of pollutants from aqueous model solutions discussed. Natural fibers, biopolymers and biocomposites integrate the principles of sustainability, industrial ecology, eco-efficiency, green chemistry and engineering in the development of the new generation of materials, products and processes.

TĚŽKÉ KOVY V ČISTÍRENSKÉM KALU A JEJICH CHOVÁNÍ PŘI SPALOVÁNÍ

MILOSLAV HARTMAN a OTAKAR TRNKA

Ústav chemických procesů, Akademie věd České republiky,
Rozvojová 135, 165 02 Praha 6
hartman@icpf.cas.cz

Došlo 18.7.06, přepracováno 15.11.06, přijato 16.11.06.

Klíčová slova: čistírenský kal, spalování, těžké kovy

Obsah

1. Úvod
2. Charakteristika čistírenského kalu
3. Původ a zastoupení anorganických složek v kalu a v popelu z kalu
4. Podmínky účinného spalování kalu a separace popelových částic ze spalin
5. Chování těžkých kovů ve spalovacím systému
 - 5.1. Rozdělení stopových prvků podle jejich těkavosti
 - 5.2. Uvolňování kovů z tuhé fáze, okolí a teplota mateřské částice
 - 5.3. Sorpce kovů z plynné fáze
 - 5.4. Termodynamické chování kovů a kovových chloridů
 - 5.5. Závěry z rovnovážných výpočtů
 - 5.6. Distribuce kovů ve spalovacích zařízeních
6. Závěr

1. Úvod

Přes značnou pozornost, která je otázce zpracování, likvidace či využití čistírenských kalů věnována, zůstává tento mimořádný ekologický a technický problém vzdálen od jednoznačně přijatelného řešení. Obtížnost zpracování stabilizovaného a odvodněného kalu tkví v jeho enormním objemu, velmi vysokém obsahu vody a neobyčejně širokém spektru přítomných chemických složek. Tabulka I obsahuje data o míře současného využívání základních postupů nakládání s kaly v některých evropských zemích (aplikace na zemědělskou půdu, skládkování a spalování).

Je však zřejmé, že vzhledem i k prostorovým nárokům a vysokému podílu organických látek přítomných v kalu už nebude nadále možné kal skládkovat. Pro využití stabilizovaného kalu v zemědělství mluví přítomnost organických látek i příznivý obsah hnojivých sloučenin v sušině (v hm.%): N – 3,8; P₂O₅ – 3,6; K₂O – 0,42; MgO – 0,98 a CaO – 7,38 (cit.²). Na překážku je však možné/reálné zastoupení nežádoucích perzistentních organických

polutantů (POP) a těžkých kovů, hrozících při zemědělské aplikaci vstupovat do potravního řetězce. Spalování kalu je komplikováno vysokým obsahem vody a vyžaduje důslednou kontrolu jak plyných, tak i tuhých emisí. Dostupné informace naznačují, že zneškodňování kalů spalováním nebo spoluspalováním s uhlím rychle nabývá na důležitosti².

Soubor těžkých kovů, jež se obecně ve spalovacích systémech sleduje, je velmi široký a zahrnuje Ag, As, Ba, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Sb, Se, Sn, Tl, V a Zn. Z těchto kovů je v čistírenském kalu obvykle nejvíce zastoupen Zn. Cu, Pb, Cr, Ni. Mn, Cd a As se v kalu mohou vyskytovat ve významných koncentracích, zatímco obsah Hg je většinou nízký.

Předložená práce navazuje na naše předcházející studie zabývající se tepelným zpracováním kalů produkovaných komunálními čistírnami odpadních vod^{3–9}.

2. Charakteristika čistírenského kalu

V typické mechanicko-biologické technologii čištění odpadních vod (ČOV) vystupuje z anaerobních stabilizačních (methanizačních, vyhnívacích) nádrží stabilizovaný, v závislosti na typu procesu obvykle i hygienický nezávadný kal ve formě silně zředěné vodné suspenze obsahující pouze kolem 5 hm.% sušiny. Následným odvodněním na sítopásovém lisu se zvyšuje obsah sušiny přibližně na 20 hm.%, aplikací odvodňovací odstředivky lze dosáhnout asi 30% hmotnostního podílu sušiny. V tomto stavu již kaly opticky vykazují poměrně tuhou konzistenci podobnou tvarohu. Přesto obsah vody je stále velmi vysoký a většinou činí 70–80 hm.%.

Organické látky (hořlavina) a anorganické látky (popel) jsou v kalu zastoupeny zhruba rovným dílem. Množství těkavé hořlaviny je obvykle pět až šestkrát větší než množství neprchavé hořlaviny (uhlík). Zatímco organický podíl kalu a jeho transformace ve vysokoteplotním oxidačním nebo redukčním prostředí byl a je předmětem výzkumných zájmů^{3,4,10,11}, je dosud málo známo o chování anorganických složek kalu (zejm. kovů) při jeho tepelném zpracování.

3. Původ a zastoupení anorganických složek v kalu a v popelu z kalu

Zdroje anorganických komponent přítomných v odpadních vodách nutno hledat v průmyslových a občanských činnostech v okolí ČOV, v korozi kovových potrubí a erozi půdy. Těžké kovy se v čistírenském kalu vyskytují ve formě organických komplexů, hydroxidů, karbonátů, fosfátů, silikátů, sulfidů nebo sulfátů. Jsou zabudovány v pevném podílu kalu a zůstávají v něm v celém procesu

Tabulka I
Využití různých způsobů nakládání s čistírenským kalem

Země ^a	Množství [1000 t suš. rok ⁻¹]	Zemědělství [%]	Skládkování [%]	Spalování [%]
Dánsko	150	43	29	28
Francie	900	27	53	20
Irsko	23	23	34	43
Německo	2750	25	65	10
Nizozemsko	280	56	32	12
<i>Průměr</i>		35	42	23

^a Převzato z cit.¹

mechanicko-biologického čištění. Jedinou efektivní cestou, jak čelit environmentálním potížím s těžkými kovy, je zabránit jejich vstupu do odpadních vod. Jak je zřejmé, tento přístup nelze aplikovat patrně nikdy v celém rozsahu.

Neblahé důsledky otrav těžkými kovy (rtuť, kadmium, olovo, chrom(VI) a arsen) jsou v literatuře dobře zdokumentovány¹². Vedle mikroorganismů tyto kovy působí nepříznivě i na člověka. Za největší hrozbu kovových emisí jsou považovány submikronové částice ze spalovacích procesů pro své potenciální prokarcinogenní účinky (zejména As, Be, Cd, Cr(VI) a Ni). Rtuť a olovo vážně poškozuje centrální nervový systém člověka.

V tabulce II jsou uvedeny obsahy těžkých kovů v anaerobně stabilizovaných čistírenských kalech ze dvou evropských a jedné zámořské země. Je vidět, že v kalech jsou nejvíce zastoupeny zinek, měď, chrom, olovo a nikl. Průměrné obsahy těžkých kovů v kalech německých a českých se příliš neliší, v kalu americké proveniencí jsou množství těžkých kovů zřetelně vyšší.

V pracích zabývajících se čistírenskými kaly se také setkáváme s pojmy lehké či lehčí kovy. Takto jsou označovány křemík, železo, hliník, vápník, hořčík, sodík, draslík a titan, které jsou prakticky vždy v kalu významně zastou-

peny. Tyto kovy jsou také někdy označovány za majoritní (hlavní) prvky. Kovy těžké jsou rovněž klasifikovány jako stopové (minoritní) prvky. Pro úplnost dlužno připomenout, že k majoritním prvkům obsaženým v kalu samozřejmě patří též nekovy, jako uhlík, kyslík, vodík, dusík a fosfor. Obvykle jsou v čistírenském kalu také přítomna malá, leč významná množství chloru a síry.

V tabulce III jsou prezentována data o zastoupení lehkých elementů v popelech z českého a německého stabilizovaného kalu. Pro srovnání jsou též uvedeny obsahy těchto složek v popelu z hnědého uhlí (důl Bílina), jakož i zastoupení základních složek v cementovém slínku. Jak je z tabulky III patrné, základními konstituenty popela z kalu jsou SiO₂, Al₂O₃, Fe₂O₃, CaO a P₂O₅. Významné jsou též podíly MgO a alkalických kovů (Na a K).

Popel z hnědého uhlí vykazuje ve srovnání s popelem z kalu výrazně vyšší podíly SiO₂, Al₂O₃ a TiO₂. Slabě je v popelu z uhlí zastoupen P₂O₅, výrazně nižší jsou též podíly CaO a Fe₂O₃. V porovnání s cementovým slínkem obsahuje popel z kalu příliš nízký podíl CaO, na druhé straně má však příliš vysoké obsahy Al₂O₃, SiO₂, Fe₂O₃, MgO a P₂O₅.

Tabulka II
Obsahy těžkých kovů v anaerobně stabilizovaných čistírenských kalech (hodnoty v mg na 1 kg sušiny)

Kov	Česká republika ⁸	Německo ²	USA ¹³
Arsen	6	–	9
Chrom	136	91	1800
Kadmium	2,6	3,8	87
Kobalt	8,3	–	350
Měď	235	330	1250
Molybden	3,9	–	–
Nikl	55	39	410
Olovo	68	159	1940
Rtuť	4,2	2,7	7,0
Zinek	1170	1318	3483

Tabulka III

Obsahy majoritních složek (v hm.%) v popelu z čistírenského kalu, hnědého uhlí z dolu Bílina a v cementovém slínku

Složka	Popel			Cementový slínku
	český kal ⁸	německý kal ¹⁴	uhlí, Bílina ¹⁵	
Al ₂ O ₃	20,8	13,1	36,6	4–6
CaO	14,1	14,6	2,5	64–66
Fe ₂ O ₃	11,9	30,4	4,3	3–4
K ₂ O	1,4	0,8	0,8	–
MgO	8,0	1,3	1,1	1,5
Na ₂ O	0,4	0,7	1,2	–
P ₂ O ₅	11,4	10,9	0,2	–
SiO ₂	31,6	28,1	50,2	21–24
TiO ₂	0,5	–	3,0	–

4. Podmínky účinného spalování kalu a separace popelových částic ze spalin

Současný technický vývoj zřetelně indikuje rostoucí význam spalování pro zneškodnění čistírenských kalů. Zároveň se jasně potvrzuje výhodnost spalování tuhých paliv (odpadů) nejrůznějšího původu v kotlích s fluidní vrstvou. Hydrodynamické podmínky fluidních jednotek se s rostoucí rychlostí plynné fáze pohybují od režimu bublinového přes režim turbulentní až po režim cirkulační^{16,17}.

Přísné požadavky na totální destrukci a oxidaci nejrůznějších plynných polutantů vyústily ve formulaci více či méně závazných pracovních podmínek pro velmi účinný spalovací proces:

1. spalování by mělo probíhat při koncentraci kyslíku v plynné fázi min. 6 obj.%,
2. teplota spalování by neměla být nižší než 850 °C,
3. retenční doba plynné fáze při dostatečně vysoké teplotě by od posledního přídatku vzduchu měla činit alespoň 2 vteřiny.

Je zřejmé, že kombinace vysokého obsahu popela v kalu (přibližně 50 hm.% v sušině), vlivů jemné zrnitosti fluidovaných materiálů, vysokoteplotních spalovacích reakcí ve vrstvě a poměrně vysokých lineárních rychlostí plynné fáze může vést i k velmi vysokým koncentracím popela v odcházejících spalinách.

Částice popela transportované plynnou fází musí být před vypuštěním spalin do atmosféry samozřejmě odstraněny. Není bez zajímavosti, že separace prachu ze spalin bývala jedinou čistící operací pro plyny opouštějící první jednotky pro spalování kalů vybudované v 60. a 70. letech minulého století.

Částice mohou být z proudu plynu odstraněny působením buď vnějších (gravitace, elektrostatické síly) nebo vnitřních sil (odstředivé síly a setrvačné síly). Přehled zařízení a jejich rámcové možnosti jsou uvedeny v tabulce IV. Výhodami cyklonů a gravitačních usazováků je jejich jednoduchost a možnost pracovat i za velmi vysokých teplot. Podle našich zkušeností dobře navržené a vyrobené

cyklony dosahují účinnosti vyšší než 98 % pro částice větší než 5 μm.

Elektrostatické filtry mohou pracovat i při zvýšených teplotách (max. 350–400 °C). Obvykle jim bývají předřazeny cyklony, aby se snížilo zatížení elektrofiltrů a separovaly se v nich hrubší částice. Kombinace cyklonů a elektrofiltrů s filtry tkaninovými nebo s mokrou vypírkou umožňuje snížit prašnost spalin na požadované, obecně nízké hodnoty. Ukazuje se, že koncentrace těžkých kovů v takto postupně separovaných velikostních frakcích popela nemusí být stejná. Naše studie⁴ spalování předsušeného kalu v bublinové fluidní vrstvě ukázala, že pouze 15–20 % z celkového množství popela je unášeno z vrstvy jako prachový podíl. Majoritní podíl popela, tj. 80–85 % zůstává ve fluidní vrstvě. Obecně se má za to, že tyto hrubé částice jsou inertní a mohou být ukládány na běžné skládky.

Kovy vykazující vysokou tenzi par při zvýšených teplotách (zejména Hg, případně B a Se) mohou být emitovány hlavně v plynné fázi. Kovy s nižší tenzí par jsou přítomny ve velmi jemných tuhých částicích. Je známo, že velmi jemné částice ze spalovacích procesů způsobují také fibrózu a zhoršují všechny chronické plicní choroby.

Tabulka IV
Způsoby separace zrnitých materiálů z proudu plynu

Odlučovací zařízení	Min. velikost separovaných částic [μm]	Účinnost separace [%]
Gravitační usazovák	> 50	< 50
Cyklon	5–25	50–90
Elektrostatický filtr	0,01–1	95–99
Tkaninový filtr	< 1	99
Sprchová věž	> 10	< 80
Pračka Venturi	> 0,5	< 99

Z hlediska toxicity je významná též forma, ve které se kov vyskytuje. Ukazuje se, že vodorozpustné sloučeniny přechodových, i relativně neškodných kovů, jako jsou měď a zinek, mají nepříznivé vlivy na lidské zdraví. Jak bylo již uvedeno výše, tyto kovy jsou v čistírenském kalu hojně zastoupeny.

5. Chování těžkých kovů ve spalovacím systému

Chování anorganického materiálu během hoření částice a následně po něm je neobvykle složité. Dílčích procesů je mnoho a stav jejich poznání je stále na úrovni spekulací. Přitom tyto jevy jsou určující pro to, zda ten který kov opustí zařízení v plynné fázi, zakotví v obtížně separovatelných submikronových částicích či bude vázán ve snadno oddělitelných, hrubších částicích popela. Rámcově lze dovést, že rozdělení daného kovu mezi separátní výstupní proudy ze spalovacího systému je ovlivňováno formou kovu v kalu, podmínkami hoření a celkovým uspořádáním spalovacího systému.

Na obr. 1 jsou schématicky znázorněny jevy, které se při spalování vysušeného kalu pravděpodobně vyskytují. Při zahřátí a vyhoření se některé látky vypařují přímo, jiné jejich transformací např. reakcí s chlorem. Takto mohou vznikat i látky s nižší těkavostí, např. reakcí olova s aluminosilikáty.

Jemné částice popela se mohou tvořit i kondenzací přesycených par. Při tenzích nižších než rovnovážných mohou páry kovu reagovat s pevnými částicemi a takto efektivně mizet z plynné fáze. Malé pevné částice obvykle vznikají několika způsoby: fragmentací hrubších částic vyvolanou tepelným šokem nebo vývinem plynu nebo také

otěrem a nárazy zejména ve fluidní vrstvě. Distribuce velikosti částic aerosolu závisí též na době zrání částic, kdy probíhají změny velikosti vyvolané koagulací, kondenzací, příp. reakcí. Část aerosolu je zachycena v separačním systému („odprašení“ spalin), část zůstává v plynné fázi a odchází ze zařízení do atmosféry.

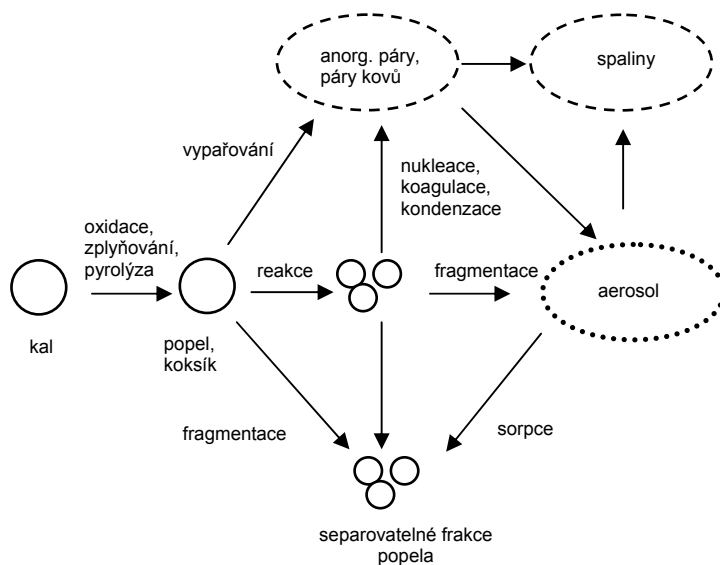
Podíl minerálních látek obsažených v sušině kalu je vysoký (kolem 50 %) a je tvořen hlavně Si, Al, Ca, Fe, P a Mg. Existuje tedy možnost, že zejména na místech s nižší teplotou dochází k fyzikální i chemické sorpci některých kovů na částicích popela.

K předpovědím chování stopových (zejména As, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Sb, V a Zn) i popelotvorných prvků (zejména Al, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, Si a Ti) se používá celková rovnovážná analýza, založená na určení absolutního minima Gibbsovy energie uzavřeného systému, přičemž vaznými podmínkami jsou látkové bilanční vztahy s předpokládanými chemickými individu. Modelovací snahy se soustřeďují na předpověď kondenzační teploty různých sloučenin, zejména kovů a složení fází. Je nutno si však uvědomit, že tento rovnovážný přístup zanedbává koncentrační a teplotní nehomogenity i kinetiku reakcí ve spalovacím systému, a je proto restriktivní.

5.1. Rozdělení stopových prvků podle jejich těkavosti

Stopové prvky můžeme podle jejich těkavosti při spalování nebo zplyňování rozdělit do tří skupin, které se částečně překrývají¹⁸. Tato klasifikace je znázorněna na obr. 2.

Skupina 1 je tvořena „žáruvzdornými“ kovy jako Hf, Mn a Zr a kovy netěkavými (např. Be, Co, Cr, Cu, Ni a V). Tyto prvky se koncentrují v hrubém popelu, např. popelu



Obr. 1. Chování anorganických složek (hlavně těžkých kovů) ve spalovacím systému

ze spodní části fluidní vrstvy, nebo jsou rozděleny mezi hrubé a jemné částice rovnoměrně. Do skupiny 2 patří těkavé kovy, jako As, Cd, Pb, Sb, Sn, Ti a Zn. Tyto prvky přechází při spalování do plynné fáze, ale později po ochlazení kondenzují. Koncentrují se v jemnějších, obtížněji separovatelných částicích. Kondenzace par probíhá preferenčně na povrchu takových částic. Skupina 3 zahrnuje velmi těkavé prvky, jako Hg, halogeny, B a Se, které z tuhé fáze spalováním prakticky vymizí. Prvky s nejvyšší tenzí par (Hg a halogeny) mohou setrvat v plynné fázi i po průchodu celým zařízením. Překryv mezi skupinami je značný a je obvykle přisuzován rozdílu v pracovních podmínkách, zejména teplotě a složení fází. Je evidentní, že na rozdíl od uhlí k těkavým elementům zastoupeným v kalu velmi významně patří též alkalické kovy (Na, K) a P.

5.2. Uvolňování kovů z tuhé fáze, okolí a teplota mateřské částice

O tom, zda a jakou rychlostí během spalování ten který kov přechází do plynné fáze, rozhoduje celá řada faktorů: fyzikální (např. velikost částic) a chemická forma kovu, charakteristika spalovacího prostředí (teplota, tlak, oxidační či redukční podmínky) a tendence reagovat s jinými složkami přítomnými v kalu. Potvrzuje se, že organicky vázané kovy (např. Na a K) se vypařují poměrně lehce. Těkavé kovy (např. As, Se a Sb) se uvolňují snadněji ze sulfidů než ze silikátů. Ukazuje se, že přítomnost chloru podporuje vypařování mnoha kovů.

Po vstupu částice do spalovacího prostoru dochází nejprve k ohřevu (příp. vysušení), poté k uvolnění prchavé hořlaviny a následně k hoření. Je zřejmé, že složení plynné

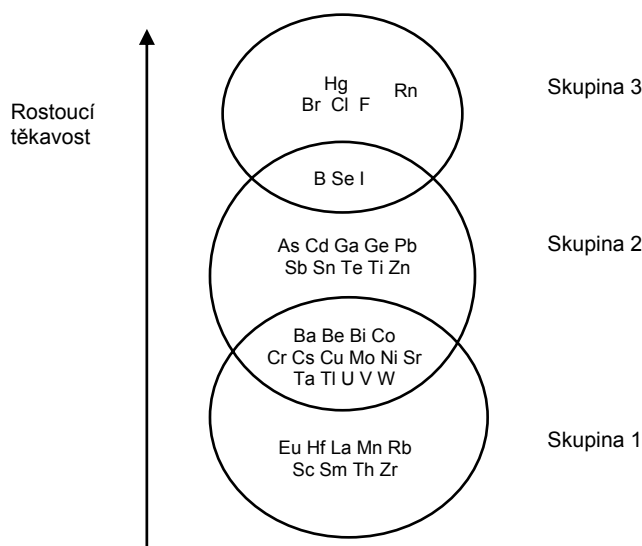
fáze v blízkém okolí částice může být velice rozdílné od složení hlavního proudu plynné fáze. Reakční produkty difundují do okolí a tím brzdí transport kyslíku k povrchu částice i jeho difuzi ve vnitřku částice. V důsledku toho se u povrchu reagující částice mohou ustavit redukční podmínky, charakterizované např. přítomností CO, H₂, navzdory tomu, že obsah kyslíku v jádru plynné fáze je dostatečně velký. Silnější oxidační prostředí obvykle vypařování kovů zpomaluje. Tento efekt byl potvrzen u Cu a Zn. Naproti tomu v redukčních podmínkách se těkavost u celé řady kovů zvětšuje (např. u Cd, Co, Ni, P, Pb, Sb, Se, Sn a Zn).

Je pravděpodobné, že to, co se děje s kovy při vysokých teplotách spalování, závisí jak na lokálních podmínkách hořící částice, tak i na celkových podmínkách systému.

Pro fluidní vrstvu je charakteristické intenzivní míchání částic a velmi rychlý přestup tepla ve vrstvě¹⁶. Přesto se ukazuje, že teplota částic hořících ve fluidní vrstvě je zřetelně vyšší než je teplota fluidní vrstvy. Tento rozdíl činí pro atmosferický systém desítky °C, pro tlakový systém dokonce i několik set °C. Teplota hořící částice stoupá s rostoucím parciálním tlakem kyslíku a se zmenšujícím se rozměrem částice. Vysoké teploty hořící částice mohou vyvolat také migraci kovů uvnitř částice. Těžké kovy mají tendenci se koncentrovat v jádru částice, přičemž např. alkalické kovy se hromadí u povrchu částice.

5.3. Sorpce kovů z plynné fáze

Bylo prokázáno, že existují materiály (např. na bázi Al, Ca a Si) schopné vázat na svém povrchu mnohé těžké



Obr. 2. Rozdělení stopových prvků podle jejich těkavosti a chování při spalování / zplyňování¹⁸

kovy z plynné fáze. Některé z nich jsou uvedeny v tabulce V. Při vysokých teplotách je rychlost sorpce vysoká, avšak nepříznivé rovnováhy vedou k nízkým sorpčním kapacitám. Při nízkých teplotách je tomu naopak. Celkový proces fixace je kombinací adsorpce nebo kondenzace, transportu a chemické reakce. Sorpci se může radikálně měnit struktura sorbentu. Tak sorpce Pb a Cd na kaolinitu $[\text{Al}_2(\text{OH})_4(\text{Si}_2\text{O}_5)]$ vyvolává měknutí a tání povrchu částic. Při sorpci na bauxitu $[\text{Al}(\text{OH})_3 + \text{AlO}(\text{OH}) + \text{HAlO}_2]$ k těmto jevům nedochází.

Značné podíly Si, Al, Fe, P a Ca přítomné v popelu z čistírenského kalu naznačují, že tento popel může alespoň některé kovy fixovat. Např. je velmi pravděpodobná vazba mezi Zn a aluminosilikátovou složkou popela.

Ve srovnání s uhlím je obsah minerálních látek v kalu relativně vyšší. Proto také množství prachových částic uvolněných spalováním kalu, a tím i zatížení odprašovačích zařízení, je větší než při spalování uhlí. Nicméně, vyšší koncentrace tuhých částic ve spalinách znamenají vyšší dostupné povrchy pro sorpci těžkých kovů.

5.4. Termodynamické chování kovů a kovových chloridů

Za dostatečného přebytku vzduchu (součinitel přebytku vzduchu, $\lambda \sim 1,4$ = dostupný kyslík/kyslík nutný k dokonalému spálení) je prakticky¹⁹ veškerý uhlík zkonvertován na CO_2 a množství CO je zanedbatelné při teplotách do 1100 °C. Cl_2 je stabilní pouze při teplotách nižších než 150 °C, při spalovacích teplotách se prakticky výlučně může vyskytovat jen HCl .

Hg těká velmi rychle při 100–600 °C jako $\text{HgCl}_2(\text{g})$, při $t > 700$ °C se vypařuje hlavně jako elementární rtuť. Při vyšších teplotách je přítomen také $\text{HgO}(\text{g})$.

Vypařování kadmia ve formě $\text{CdCl}_2(\text{g})$ začíná při 300 °C a je úplné při 400 °C. Páry elementárního kadmia ($\text{Cd}(\text{g})$) převládají při teplotách vyšších než 1000 °C.

Zn je z těkavých prvků zastoupen nejvíce. $\text{ZnCl}_2(\text{s})$ se začíná vypařovat jako $\text{ZnCl}_2(\text{g})$ již při 280 °C a přechází též na $\text{ZnO}(\text{s})$. Při 800 °C je přibližně 20 % zinku ve formě $\text{Zn}(\text{g})$.

Tabulka V

Sorbenty pro separaci par kovů z plynné fáze

Kov	Sorbent
As	$\text{Ca}(\text{OH})_2$, CaO
Cd	kaolinit
Hg	aktivní uhlí impregnované I, Br, Cl nebo S
HgCl_2	$\text{Ca}(\text{OH})_2$, směs aktivního uhlí a $\text{Ca}(\text{OH})_2$, některé popílký
Na	kaolinit, CaO
Ni (v přítomnosti Cl_2)	kaolinit
Pb	CaO , písek, jí, kaolinit, bauxit

Pb má těkavé chloridy i oxidy. Začíná se vypařovat při 300 °C jako $\text{PbCl}_2(\text{g})$, k úplnému vypaření dochází při 430 °C. Kolem 800 °C se $\text{PbCl}_2(\text{g})$ začíná rozkládat. Při vyšších teplotách než 800 °C se tvoří hlavně $\text{PbO}(\text{g})$ a menší podíl $\text{PbCl}(\text{g})$. Při vysokých teplotách (> 1000 °C) se v plynné fázi vyskytuje jistý podíl $\text{Pb}(\text{g})$.

$\text{CuCl}_2(\text{s})$ je stabilní do 200 °C, $\text{CuO}(\text{s})$ je stálý do 700 °C. $\text{Cu}_3\text{Cl}_3(\text{g})$ převládá mezi 700 a 900 °C, $\text{CuCl}(\text{g})$ je dominantní formou nad 900 °C.

$\text{NiCl}_2(\text{s})$ je stabilní při nízkých teplotách, při teplotách nad 250 °C přechází na $\text{NiO}(\text{s})$. Při vyšších teplotách se vyskytují nízké podíly $\text{NiCl}_2(\text{g})$, $\text{Ni}(\text{OH})_2(\text{g})$ a $\text{NiCl}(\text{g})$.

As setrvává v tuhé fázi jako As_2O_5 asi do 500 °C. Vypařuje se hlavně jako $\text{As}_4\text{O}_6(\text{g})$ mezi 500 a 1000 °C. Při teplotách nad 1000 °C je dominantní formou $\text{AsO}(\text{g})$. $\text{AsCl}_3(\text{g})$ se vyskytuje v malých množstvích kolem 500 °C.

$\text{Sb}_2\text{O}_5(\text{s})$ je stabilní do 630 °C, $\text{SbO}_2(\text{s})$ je stálý od 630 do 800 °C. Při teplotách vyšších těká jako $\text{Sb}_4\text{O}_6(\text{g})$. $\text{SbCl}(\text{g})$ se vyskytuje též a je převládající formou nad 1050 °C. V malých množstvích se vyskytuje též $\text{SbCl}_3(\text{g})$.

Ačkoliv bod varu FeCl_3 činí přibližně 650 °C, jsou kysličníky železa za podmínek spalování kalů velmi stabilní a žádná forma železa nepřechází do plynné fáze při teplotách do 1100 °C. Stabilní formou je za spalovacích podmínek $\text{Fe}_2\text{O}_3(\text{s})$.

Mn těká velice málo: přibližně 1 % celkového množství manganu je při 1000 °C přítomno jako $\text{MnCl}_2(\text{g})$.

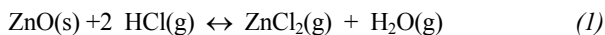
Mg, Al a Ti oxidy jsou stabilními tuhými fázemi za podmínek, kdy by se chloridy mohly vypařovat.

Sn se za běžných (oxidačních) podmínek vyskytuje ve formě $\text{SnO}_2(\text{s})$, a tak prakticky netěká.

Za výrazně oxidačních podmínek ($\lambda \sim 1,4$) pouze Hg (g) a nad 1000 °C též Cd(g) se mohou v plynné fázi vyskytovat v elementární formě. Jen velmi malá množství Zn(g) se tvoří při 1100 °C. Při podmínkách redukčních ($\lambda < 1$) se veškerý Sn vypaří při 750 °C, převážně jako $\text{SnCl}_2(\text{g})$. Při vyšších teplotách převládají $\text{SnCl}(\text{g})$ a $\text{SnO}(\text{g})$. Redukční podmínky jsou velmi příznivé též pro tvorbu Zn(g). Úplná konverze na Zn(g) je možná při teplotách nad 800 °C ($\lambda < 1$). Na rozdíl od Zn, se za redukčních podmínek těkavost Cu snižuje, tj. rozšiřuje se oblast existence stabilní kovové mědi ($\text{Cu}(\text{s})$).

Zatímco těkavost Zn, Cd a Cu se značně zvětšuje s rostoucím obsahem Cl, u jiných kovů je vliv Cl na jejich těkavost slabší (Pb, Hg, Mn, Ni) nebo prakticky žádný (As, Cr, Sb).

Jak plyne z rovnováhy reakce (I):



těkavost Zn se snižuje s rostoucím parciálním tlakem vodní páry v systému.

Za oxidačních podmínek a při teplotách do 800 °C přítomnost S v principu zpožďuje (brzdí) vypařování (např. Cd, Zn, Pb). Při teplotách nad 800 °C by neměl být tento efekt významný. Za redukčních podmínek S podporuje vypařování Sn tvorbou těkavého $\text{SnS}(\text{g})$.

V přístupu k výsledkům termodynamických výpočtů je nutno si uvědomit významnou nejistotu

v předpokládaném stavu separovaných kondenzovaných fází (kovové oxidy, chloridy, sulfáty, sulfidy). Nelze vyloučit, že se vyskytují i komplexní fáze jako $\text{ZnO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$ a $\text{CdO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$ či silikáty, alumináty a aluminosilikáty Zn, Pb, Cu a Cd, které snižují těkavost kovů.

5.5. Závěry z rovnovážných výpočtů

Hg se úplně vypaří za všech podmínek při teplotách nad $100\text{ }^\circ\text{C}$ jako $\text{HgCl}_2(\text{g})$ nebo $\text{Hg}(\text{g})$. Cd a Pb také těkají snadno jako chloridy i za oxidačních podmínek. Zn se vypařuje částečně jako $\text{ZnCl}_2(\text{g})$. K úplnému vypaření je nutný přebytek Cl nebo silnější redukční prostředí. Zn může být pevně vázán ve stabilních spinelech (např. $\text{ZnO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$) nebo v silikátech a aluminosilikátech.

Vypařování As a Sb není podmíněno přítomností Cl. As se vypařuje úplně při teplotách nad $650\text{ }^\circ\text{C}$, Sb nad $850\text{ }^\circ\text{C}$. Úplné vypaření Cu ve formě $\text{CuCl}(\text{g})$ a $\text{Cu}_3\text{Cl}_3(\text{g})$ je v oxidačních podmínkách možné, pokud se netvoří stabilní komplexní oxidy ($\text{CuO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$ a $\text{CuO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3$) nebo silikáty. Za redukčních podmínek se tvoří stabilní $\text{Cu}(\text{s})$ a Sn se může vypařovat jako $\text{SnS}(\text{g})$.

5.6. Distribuce kovů ve spalovacích zařízeních

Vedle výše diskutovaného vypařování se do proudu spalin mohou těžké kovy dostat i mechanickými pochody, jako jsou desintegrace, ořez a kolize částic (zejména ve fluidní vrstvě). Experimentálních dat o chování těžkých kovů ve spalovacích jednotkách je velmi málo a poznatky z nich plynoucí nejsou vždy jednoznačné.

Ukazuje se, že spalováním kalu při $870\text{ }^\circ\text{C}$ (cit.²⁰) se relativně těkavé Cd a Pb koncentrují v částicích v pořadí hrubý popel < popílek odloučený v cyklonu < popílek odloučený mokrou vypírku (viz tab. VI). Tak např. obsah Cd v jemném popílku z mokré vypírky (velikost přibl. $1\text{ }\mu\text{m}$) je téměř o dva řády vyšší než v hrubém popelu. Tento jev je pravděpodobně vyvolán větším povrchem menších částic, na němž těkavé sloučeniny kondenzují. Naproti tomu koncentrace téměř netěkavých Cu a Ni zůstávají u různých frakcí prakticky konstantní. Většina Cu, Ni a Pb vstupujících v kalu do ohniště jej opouští v proudu hrubého popela, většina Cd odchází v popílku odloučeném vodní vypír-

kou. Podobné chování jako Cd a Pb, tj. tendence přednostně se fixovat na jemnější částice (odloučené v cyklonu, velikost cca $12\text{ }\mu\text{m}$ a tkaninových filtrech, velikost cca $3,5\text{ }\mu\text{m}$), vykazuje též Zn (cit.²¹). Jak je vidět na obr. 2, patří Zn podobně jako Cd a Pb ke středně těkavým kovům.

Míru obohacení frakce popela lze vyjádřit jako „relativní obohacení“ RE:

$$\text{RE} = (X_a/X_f) a_f \quad (2)$$

kde a_f je hm. podíl popela v palivu, X_a a X_f jsou hm. podíly daného prvku v popelu a v palivu. Protože relativní obohacení je jednotkové ($\text{RE} = 1$) pro netěkavé prvky (např. Al, Ca, Fe, Mg, Mn a Si), může rovnice (2) sloužit i k odhadu přesnosti analýz paliva a popela.

Alternativní mírou obohacení popelové frakce daným prvkem je „obohacovací faktor“ EF:

$$\text{EF} = \left(\frac{X}{X_n} \right)_a / \left(\frac{X}{X_n} \right)_f \quad (3)$$

definovaný pomocí obsahů těchto prvků ve vstupním (X_f) a výstupním proudu (X_a), normalizovaných vzhledem k obsahům prvku (X_n)_f a (X_n)_a, jenž může být považován za netěkavý (např. Al nebo Si). Praktické zkušenosti ukazují, že v důsledku chyb při odběru vzorků i vlastní analýze přesnost stanovení EF nebo RE nebývá lepší než $\pm 30\%$.

Také v kalu slabě zastoupené složky, jako jsou dosti těkavý Se a středně těkavý As a Sb, vykazují zřetelnou tendenci se akumulovat na jemných částicích popela²². Zatímco v reprezentativním vzorku popela činily obsahy As, Sb a Se $19, 2,5$ a $1,5\text{ mg kg}^{-1}$, v jemném popílku o střední velikosti kolem $1\text{ }\mu\text{m}$ se koncentrace zvýšily na $45, 25$ a 50 mg kg^{-1} . Sledované prvky se v popelu vyskytují v oxidických formách, přičemž převažují As_2O_3 , Sb_2O_3 a SeO_2 . Arsen a selen vykazují zřetelnou afinitu k vápníku v popelu.

Bilancování jednotlivých těžkých kovů u spalovacího zařízení není snadné a je nutně zatíženo začnými chybami. V případě fluidního spalování kalu při $800\text{--}850\text{ }^\circ\text{C}$ výsledky naznačují, že sledované kovy (Cr, Cu, Fe, Pb a Zn) opouštějí zařízení stabilně vázané v popelu. Jejich vyluhovatelnost z popela je podstatně menší než vyluhovatelnost z původního anaerobně stabilizovaného kalu²³.

Tabulka VI

Koncentrace těžkých kovů v různých velikostních frakcích popela z kalu (hodnoty v mg na 1 kg sušiny)

Frakce ^a	Cd	Pb	Cu	Ni
Hrubý popel	23	627	3465	300
Popel z cyklonu (cca $10\text{ }\mu\text{m}$)	397	898	3707	273
Popel z mokré vypírky (cca $1\text{ }\mu\text{m}$)	2081	1311	3684	262

^a Převzato z cit.²⁰

6. Závěr

V čistírenském kalu je v rozličné míře zastoupena řada kovů o různé toxicitě a těkavosti. Z hlediska případné aplikace stabilizovaného kalu na zemědělskou půdu nebo jeho zneškodnění spalováním je v první řadě významná přítomnost především zinku, dále též zastoupení mědi, olova, chromu a niklu.

Téměř kterýkoliv aspekt spalovacího procesu může ovlivnit chování těžkých kovů. Jejich vypařování je odvislé od jejich formy výskytu v kalu, složení kalu a velikosti jeho částic. Zvláště významná je teplota hořící částice a složení plynné fáze v jejím bezprostředním okolí. Kondenzace par kovových sloučenin závisí na průběhu jejich ochlazování, na dostupnosti plynných reaktantů a na přítomnosti i vlastnostech částic popela.

Nejtěkavější je Hg (> 100 °C) jako HgCl₂(g) nebo Hg(g), snadno se vypařují též Cd a Pb jako chloridy. Zn těká částečně jako ZnCl₂(g), vypařuje se úplně jen za redukčních podmínek, pokud není vázán ve spinelech nebo silikátech. Cu se vypařuje jako CuCl(g), v praktických podmínkách je její těkavost velmi omezená. As a Sb přecházejí za vysokých teplot do plynné fáze úplně v oxidických formách. Těkavé kovy vykazují tendenci akumulovat se v jemnějších frakcích popela.

Výpočty celkové termodynamické rovnováhy spalovacího systému jsou možné jen s řadou zjednodušujících předpokladů, jež platnost výsledků nutně omezují. Nicméně tyto výpočty poskytují velmi užitečné informace o trendech v chování jednotlivých kovů v daném systému.

S výjimkou Hg zůstávají všechny těžké kovy fixovány v popelu nebo popílku. Jejich vyluhovatelnost z popela je mnohem nižší než ze stabilizovaného kalu.

Tato práce vznikla za podpory Grantové agentury AV ČR (grant č. 4072201).

LITERATURA

- Lue-Hing C., Matthews P., Namer R., Okuno N., Spinosa L.: *Water Sci. Technol.* 34, 517 (1996).
- Werther J., Ogada T.: *Prog. Energy Combust. Sci.* 25, 55 (1999).
- Hartman M., Svoboda K., Veselý V., Trnka O., Chour J.: *Chem. Listy* 97, 976 (2003).
- Hartman M., Svoboda K., Pohořelý M., Trnka O.: *Ind. Eng. Chem. Res.* 44, 3432 (2005).
- Pohořelý M., Svoboda K., Trnka O., Baxter D., Hartman M.: *Chem. Pap.* 59, 458 (2005).
- Pohořelý M., Svoboda K., Hartman M.: *Powder Technol.* 142, 1 (2004).
- Hartman M., Pohořelý M., Trnka O.: *Chem. Pap.* 60, 74 (2006).
- Hartman M., Pohořelý M., Trnka O.: *Chem. Listy* 100, 813 (2006).
- Hartman M., Trnka O., Pohořelý M.: *Chem. Listy*, v tisku (2007).
- Werther J., Saenger M.: *J. Chem. Eng. Jpn.* 33, 1 (2000).
- Sponar J., Havlica J.: *Chem. Listy* 95, 424 (2001).
- Förstner U., Wattman G. T. W.: *Metal Pollution in the Aquatic Environment*. 2. vyd. Springer, Berlín 1985.
- Bennet R. L., Knapp K. T.: *Environ. Sci. Technol.* 16, 831 (1982).
- Cenni R., Gerhardt T., Spliethoff H., Hein K. R. G.: *Proceedings, 1997 Int. Conf. Incineration and Thermal Treatment Technol. Univ. of California, Oakland 1997*.
- Džumbová L.: *Disertační práce*. VŠCHT Praha, Praha 2004.
- Hartman M., Beran Z., Svoboda K., Veselý V.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 60, 1 (1995).
- Birkerod R. C.: *Fortschritt-Berichte VDI, Reihe 6, Nr. 460*. VDI Verlag, Düsseldorf 2001.
- Clarke L. B.: *Fuel* 72, 731 (1993).
- Verhulst D., Buekens A.: *Environ. Sci. Technol.* 30, 50 (1996).
- Balogh S.: *Water, Air, Soil Pollut.* 91, 249 (1996).
- Cohen L. B., McFu J., Feldman J., Tripodes J. G.: *Proceedings, 1997 Int. Conf. Incineration and Thermal Treatment Technol. Univ. of California, Oakland 1997*.
- Seames W. S., Fernandez A., Wendt J. Q. L.: *Environ. Sci. Technol.* 36, 2772 (2002).
- Lee J.-K., Lee K.-H., Chun H. S.: *J. Chem. Eng. Jpn.* 26, 179 (1993).

M. Hartman and O. Trnka (*Institute of Chemical Process Fundamentals, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **Heavy Metals in Sewage Sludge and Their Behaviour in Incineration**

Fundamental aspects of the behaviour of a number of heavy metals such as As, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Sb, Sn, and Zn in sewage sludge combustion in a fluidized-bed unit are investigated. Main sources of uncertainty in computation of thermodynamic equilibria are the homogeneity of the combustion system, the state of the condensed phases, and the kinetics limitations. Nevertheless, the calculations are able to reveal general trends. Practically all Hg and most Cd and Pb volatilize, as observed in practice. The amounts of the volatilized Zn and Cu depend on the reduction conditions and on the amount of present Cl. As and Sb also volatilize under the prevailing oxidation conditions. The presence of sulfur stabilizes many of the metals at low temperatures but has little influence above 800 °C. The residual particulate matter (ash) from incineration becomes progressively enriched in more volatile metals (Cd and Pb) with decreasing particle size and in the order bottom ash < cyclone ash < water scrubber particles < stack particles. The less volatile metals (Cu and Ni) are not similarly enriched. The heavy metals in the sludge are often completely retained in the output ash. The leachability of heavy metals from the ash is much lower than that from the digested sludge.

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

AUTOMATIZOVANÝ SYSTÉM KONTINUÁLNÍHO SLEDOVÁNÍ AEROBNÍHO BIOLOGICKÉHO ROZKLADU LÁTEK VE VODNÍM I PŮDNÍM PROSTŘEDÍ

PAVEL DŘÍMAL a JAROMÍR HOFFMANN

*Ústav inženýrství ochrany životního prostředí, Fakulta technologická, Univerzita Tomáše Bati, nám. T. G. Masaryka 275, 762 72 Zlín
drimal@ft.utb.cz*

Došlo 27.2.07, přepracováno 3.8.07, přijato 10.9.07.

Klíčová slova: Micro-Oxymax, IČ spektroskopie, paramagnetická rezonance, biologický rozklad

Úvod

Průběh aerobního biologického rozkladu látek je zřejmě nejčastěji sledován na základě změn složení plynné fáze (obsah CO₂ a O₂), probíhající v důsledku mikrobiálních pochodů v uzavřeném testovacím systému. Standardní postupy stanovení těchto základních ukazatelů biorozkladu jsou v závislosti na typu prostředí předepsány českými i mezinárodními normami (ČSN ISO, ISO, ASTM aj.). Standardní postup stanovení produkovaného CO₂ dle normy^{1,2} spočívá v kontinuálním stripování testovacího systému vzduchem zbařeným vzdušného CO₂, při kterém je produkovaný CO₂ unášen v proudu nosného vzduchu, je pohlcen v roztoku NaOH a následně acidimetricky stanoven (vodní, půdní i kompostovací testy, např. v práci^{3,4}). Standardní postup stanovení O₂ dle norem^{2,5} spočívá ve sledování změn tlaku plynné fáze v průběhu testu ve vhodném typu respirometru; postup použitý např. v práci^{3,6}. Vzhledem ke značné pracnosti a omezené testovací kapacitě standardních postupů je snaha využívat alternativních instrumentálních metod stanovení aktuálního obsahu CO₂ a O₂ s možností jejich automatizace. Mezi automatické metody sledování průběhu biorozkladu patří zejména přímá analýza plynu v headspace plynovou chromatografií (GC) nebo infračervenou spektroskopií (IČ), použitelné pro vodní^{7,8} i půdní testy^{9,10}. Výhodou plynové chromatografické analýzy je možnost souběžného stanovení obsahu O₂ vedle stanovení CO₂. U obou metod je nutno výsledky celkové bilance CO₂ korigovat o vliv acidobazické rovnováhy CO₂ v systému plyn-kapalina.

Automatizované sledování průběhu biorozkladu bylo také prováděno konduktometrickým stanovením produkovaného CO₂ v kombinaci s paralelním měřením biologické spotřeby O₂ v uzavřeném respirometru využitelné pro obě prostředí (vodní, půdní)^{11,12}.

Cílem je používání takové testovací metody, která je plně automatizovaná a umožňuje kontinuální záznam sledovaných parametrů během testu bez větších zásahů obsluhy. Experimentální podmínky testů musí být navrženy tak, aby bylo zajištěno aerobní prostředí během celé doby experimentu.

V laboratorních podmínkách může být průběh rozkladu ve vodním i půdním prostředí sledován také na automatickém analyzátoru Micro-Oxymax s IČ analýzou CO₂ a analýzou O₂ elektrochemickým či paramagnetickým analyzátozem^{13,14}. V odborné literatuře bylo nalezeno několik prací využívající daný respirometr, které se převážně týkaly hodnocení biorozložitelnosti testovaných vzorků a detailněji nepopisovaly jeho princip a experimentální podmínky testů. Další častou aplikací respirometru je u testů popisujících aktivitu sledovaných mikrobiálních kultur¹⁵.

Respirometr Micro-Oxymax představuje relativně unikátní zařízení, nepříliš známé i v odborné veřejnosti. Cílem práce tedy bylo: 1) orientační popis činnosti respirometru Micro-Oxymax včetně možností obsluhujícího softwaru přístroje a 2) popis využití analyzátoru při testech biologické rozložitelnosti makromolekulárních látek ve vodním i půdním prostředí, experimentálních výstupů a jejich zpracování.

Respirometr Micro-Oxymax

Analyzátor Micro-Oxymax je uzavřený, plně automatizovaný systém kontinuálního měření koncentrace O₂, CO₂ a CH₄ v plynné fázi uzavřených testovacích baněk („closed-circuit“). Je použitelný pro sledování biologického rozkladu látek jak za aerobních (detektory O₂ a CO₂), tak i anaerobních podmínek (detektory CO₂ a CH₄). Detektory CH₄ a CO₂ pracují na principu infračervené spektroskopie (jednopaprskové), detektor O₂ na principu paramagnetické rezonance. Jsou použitelné i další detektory: H₂, CO, H₂S a SO₂.

Respirometr pracuje v uzavřené smyčce, tzn., že vzduch z testovacích lahví je čerpán do detektorů a odtud vrácen zpět do testovacích lahví. Přítomný O₂ a CO₂ v plynné fázi je periodicky měřen a koncentrační změny jsou přepočítávány jako spotřeba O₂ a produkce CO₂. Hodnoty jsou ihned přepočítávány na standardní podmínky. Výsledky mohou být rovněž vyjadřovány v mg nebo µg za zvolenou časovou jednotku. Tento postup zahrnuje i případnou periodickou recalibraci detektorů měřením referentního plynu (čistý vzduch nebo jiná plynná směs známého složení). Nastavení a udržování provozních podmínek je zajištěno externím počítačem, který současně slouží pro ukládání, zpracování a prezentaci experimentálních dat. Použitý software firmy Columbus Instruments,

USA umožňuje širokou variabilitu konfigurace, kalibraci detektorů, měření objemů a těsností testovacích pozic (chambers), měření těsností systému apod.

Uspořádání přístroje je velmi variabilní co do typu připojených detektorů, tak do počtu testovacích pozic. Simultánně mohou pracovat pouze tři detektory (z nabídky O_2 , CO_2 , CH_4 , CO , H_2S , H_2 , SO_2); jejich volba je samozřejmě dána typem testu. Připojované testovací baňky mohou být různého objemu v rozmezí 20 ml až desítek litrů, které jsou obvykle temperovány při teplotě dané typem prostředí. Ve víku každé baňky jsou umístěny 3 rychloupínací spojky, pomocí kterých je zajištěno plynotěsné připojení k přepínací ventilové jednotce (obr. 1, pozice 8) respirometru polyamidovými hadičkami. Kapacita jedné ventilové řídicí jednotky je 10 testovacích pozic, systém je schopen řídit až 80 testovacích míst (tj. celkem 8 ventilových jednotek). V našem případě byl přístroj vybaven 30 pozicemi. Všechna zařízení jsou propojena (elektricky i pneumaticky) s řídicí „čerpací“ jednotkou (obr. 1, pozice 7) a počítačem. Schéma přístroje je uvedeno na obr. 1; výrazně je vyznačen proud plynu během analýzy testovací pozice. Na obr. 2 je uvedeno ilustrační foto stavebnicového uspořádání respirometru.

Pracovní rozsahy připojených detektorů: analyzátor O_2 19,3–21,5 obj.%, analyzátor CO_2 0–0,9 obj.%, analyzátor CH_4 0–5 obj.% (pouze anaerobní testy).

Nastavení a kalibrace respirometru

Spuštění nového testu předchází několik kroků. V první fázi je nutná kalibrace připojených detektorů. Jsou

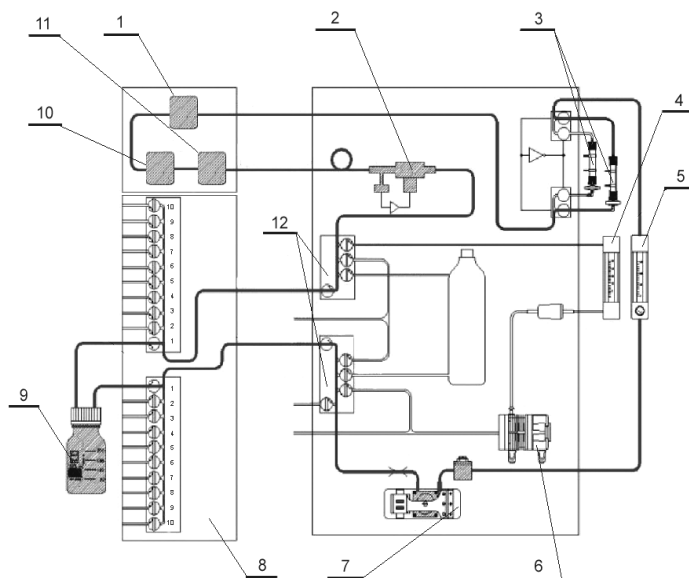
dva možné způsoby kalibrace:

- „*Injection method*“ – provádí se přímým nástřikem plynu známého složení do testovací cely známého objemu, připojené k řídicí čerpací jednotce. Tato metoda se používá pouze v případech, kdy není možné použít druhý způsob kalibrace (např. není dostupný požadovaný směsný plyn v tlakové láhvi s atestem).
- „*Bottle method*“ – ke kalibraci detektorů jsou používány plyny o potřebném složení (čisté či směsné plyny s atestem v tlakových lahvích) v závislosti na typu a rozsahu připojených detektorů. Tlakové láhve jsou připojeny k řídicí čerpací jednotce systému. Kalibrace se provádí postupně v několika krocích (viz níže).

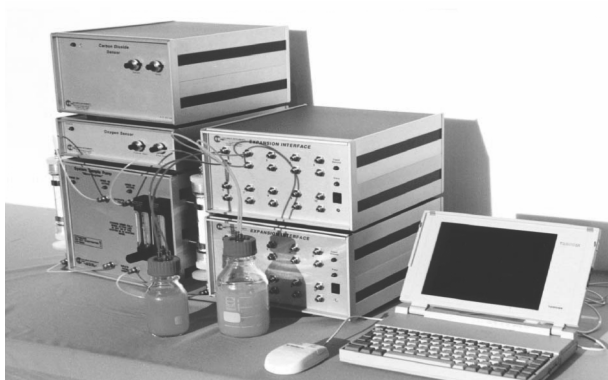
V našem případě byly použity následující kalibrační plyny: vzduch, čistý N_2 , směs N_2 (80 obj.%) + O_2 (20 obj.%), směs CO_2 (0,818 obj.%), CH_4 (4,05 obj.%) a N_2 (95,132 obj.%); dodavatel plynů firma Linde Technoplyn, směsi s atestem.

Dále je prováděna diagnostika přístroje kontrolující funkčnost jednotlivých částí respirometru. V programu je k dispozici několik typů diagnostických testů:

- „*Basic diagnostic test*“ – při kterém jsou testovány základní čidla přístroje (kontrola teplot, tlaků, průtoků a těsností).
- „*Valves and Sensors*“ – jsou ověřovány připojené detektory, čerpací jednotka a sušičky analyzovaného plynu (obr. 1, pozice 3) – těsnosti, objemy.
- „*Expansion Unit*“ – je prověřována ventilová jednotka a připojení testovacích baněk (těsnosti, objemy).



Obr. 1. Schéma automatického analyzátoru Micro-Oxymax měření koncentrace CO_2/O_2 ; 1 – paramagnetický analyzátor O_2 , 2 – tlakový regulátor, 3 – sušič analyzovaného plynu, 4 – průtokoměr pro „REFRESH“, 5 – průtokoměr analyzovaného plynu, 6 – čerpadlo „REFRESH“, 7 – čerpací (řídicí) jednotka, 8 – ventilová jednotka s 10 měřícími pozicemi, 9 – jedna testovací pozice, 10 – IČ analyzátor CO_2 , 11 – IČ analyzátor CH_4 , 12 – ventilová skříň



Obr. 2. Ilustrační foto stavebnicového uspořádání respirometru Micro-Oxymax; sestava zahrnuje (vlevo shora) detektor O_2 , detektor CO_2 , čerpací řídicí jednotka (vpravo) dvě ventilové řídicí jednotky připojení 20 měřicích pozic

Závěrečným krokem je softwarové nastavení experimentálních podmínek testů. Je nastavován počet aktivních připojených pozic (*Channels*), frekvence analýz plynné fáze a doba trvání experimentu (*Timing*), frekvence a doba trvání případného proplachu baněk „čerstvým“ vzduchem (*Refresh*), způsob vyjádření naměřených dat (*Data Units*) apod. Podmínky experimentu musí být nastaveny s ohledem na měřicí rozsahy detektorů.

Spuštění testů a jejich sledování probíhá postupně v několika následných krocích:

- 1) proplach všech testovacích baněk včetně detektorů a spojovacích cest vzduchem zbaveným vzdušného CO_2 a vlhkosti (*Refresh Air*),
- 2) změření objemů všech testovacích baněk (*Auto Volume Measurement*),
- 3) analýza složení plynné fáze postupně pro všechny pozice,
- 4) při překročení nastavené mezní koncentrace CO_2 (*Refresh Threshold*) v plynné fázi následuje proplach baňky „čerstvým“ vzduchem (*Refresh Air*) a opět analýza plynné fáze,
- 5) proplach detektorů a spojovacích cest vzduchem, tímto vzduchem je částečně ředěn plyn v následující měřicí baňce; na ředění je softwarově prováděna korekce,
- 6) kroky ad 3) až ad 5) se opakují při vlastním testování,
- 7) naměřená data jsou průběžně odesílána do počítače, přepočtena na standardní podmínky ($0\text{ }^\circ\text{C}$, tlak $101\,325\text{ Pa}$) a vyjadřována jako rychlost produkce/spotřeby sledovaného plynu (CO_2 , O_2), kumulativní produkce/spotřeba, objemová koncentrace (%) sledovaných plynů v plynné fázi každé testovací baňky.

Testy biologické rozložitelnosti

Biologická rozložitelnost testovaných látek byla posuzována na základě skutečné produkce CO_2 resp. skutečné spotřeby O_2 v plynné fázi uzavřených testovacích baněk připojených k respirometru (v „headspace“). Biodegradace probíhala ve vodním nebo v půdním prostředí, ve kterém

byl testovaný vzorek jediným „externím“ zdrojem uhlíku a energie. Testy probíhaly v temnu při $25\text{ }^\circ\text{C}$ v souladu s normami^{1,2,5}. Podmínky testů na respirometru Micro-Oxymax byly převzaty z dřívějších prací^{16,17}.

Biologický materiál

Zdrojem mikroorganismů bylo půdní mikrobiální konsorcium ve formě vodného výluhu půdních mikroorganismů (testy ve vodním prostředí) nebo přímo v půdě (půdní testy). V obou případech byla použita směs dvou komerčních půdních substrátů a jedné přírodní půdy v poměru zahradní substrát : hrobový substrát : přírodní půda = 2 : 1 : 1. Před použitím byla půdní směs zbavena zbytků rostlin a jiných organických či inertních hrubých materiálů, poté přesita. Do testů byla použita frakce částic do velikosti 5 mm.

U směsi půd byl stanoven obsah celkového organického uhlíku $TC = 32,9\%$, celkový obsah dusíku (stanoveného podle Kjeldahla) $N_{\text{TNK}} = 0,50\%$ a celkový obsah fosforečnanů na $P = 0,2\%$. Hodnota pH vodného výluhu bylo cca 6,6.

Příprava půdního výluhu

20 g půdy s vlhkostí cca 50 % bylo smícháno se 100 ml roztoku minerálního média, 2 hodiny třepáno na třepače a zfiltrováno přes předem promytý filtrační papír. Před použitím v testu bylo inokulum min. 24 hodin pro-
vzdušňováno. Dávkování inokula do testů odpovídalo výsledné koncentraci 10^6 buněk / 1ml reakční suspenze^{18,19} (počítáno na celkové množství buněk z mikrobiologického rozboru).

Testy ve vodním prostředí

Biologický rozklad probíhal v kapalném kultivačním prostředí tvořeném směsí testovaného vzorku a mikrobiálního inokula v roztoku minerálního média. K inokulaci byl použit vodný výluh půdních mikroorganismů. Počáteční koncentrace testovaných vzorků byla $\rho = 300\text{ mg l}^{-1}$. Objem kapalně fáze v testovacích baňkách¹⁶ činil $V_1 = 100\text{ ml}$, objem plynné fáze $V_g = 1040\text{ ml}$ (tj. poměr $V_1 / V_g \approx 0,10$).

Na začátku a konci testu bylo vždy měřeno pH kapalně fáze. Počáteční pH bylo nastaveno na $\text{pH} \approx 7,1$ a udržováno přidávkem fosforečnanového tlumivého roztoku (součástí minerálního média). U všech experimentů bylo také sledováno chování samotného mikrobiálního inokula (slepý pokus). Testy probíhaly v temnu při teplotě $25\text{ }^\circ\text{C}$ a kontinuálním míchání kapalně fáze. Analýza složení plynné fáze byla prováděna v desetihodinových intervalech.

Testy v půdním prostředí

Požadované množství půdy (o sušině přibližně 50 %) bylo nadávkováno do testovací lahve. Do této navážky byl postupně v malých dávkách přimíchán testovaný vzorek v pevné formě (prášku). Současně se vzorkem byla půda obohacena o dusík v podobě $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ a fosfor v podobě Na_2HPO_4 tak, aby byl zhruba respektován poměr C : N : P = 100 : 10 : 1. Směs byla homogenizována protřepáním

a případně upravena sušina. Testovací láhve byly plynotěsně uzavřeny a připojeny k respirometru. Testy probíhaly v temnu při 25 °C.

Vedle vlastního testu se vzorkem bylo sledováno chování samotného půdního materiálu (slepý pokus). Na začátku a konci testu bylo stanoveno pH (v půdním výluhu) a sušina půdy. Počáteční sušina byla cca 50 %, počáteční pH bylo přibližně 6,5.

Experimentální uspořádání bylo zvoleno dle práce¹⁷: testovací lahve o celkovém objemu 1140 ml, 120 g půdy o vlhkosti cca 50 % (60 g sušiny) a přibližně 180 mg vzorku v práškové formě (přesně váženo). Množství CO₂ a O₂ v plynné fázi testovacích lahví bylo sledováno v šestihodinových měřicích intervalech, poté automaticky proveden proplach („refresh“) testovacích baněk (aby nebyl překročen měřicí rozsah detektoru CO₂ – max. 0,9 obj.%).

Testované vzorky

Přehled testovaných vzorků včetně jejich základní charakteristiky je uveden v tab. I. Byly vybrány modelové vzorky s rozdílným průběhem biorozkladu (dobře i špatně rozložitelné), na kterých byla demonstrována citlivost stanovení CO₂ a O₂ na respirometru Micro-Oxymax. Hlavní složkou směsí označených D 97/235 a D 97/236 (tab. I) byl polyvinyl alkohol PVA (Sloviol nebo Poval) s dalšími přísadami (glycerol, hydrolyzát kolagenu Hykol E, různé typy škrobů).

Vzorky byly připraveny ve spolupráci se Slovenskou technickou univerzitou v Bratislavě, způsob přípravy je blíže popsán v práci²⁰.

Zpracování výsledků

U testů ve vodním prostředí bylo naměřené množství vyprodukovaného CO₂ korigováno s ohledem na podmín-

ky acidobazické rovnováhy CO₂ podle rovnice (1) (cit.¹⁶). Bilanční rovnice (1) umožňuje výpočet celkového množství CO₂ s ohledem na acidobazickou a fázovou rovnováhu v systému plyn-kapalina:

$$n_{\text{CO}_2\text{g+l}} = \left(V_{\text{g}} + V_{\text{l}} \cdot K_{\text{lg}} \cdot (1 + 10^{-\text{pK}_1} \cdot 10^{\text{pH}}) \right) \cdot c_{\text{CO}_2\text{g}} \quad (1)$$

kde $n_{\text{CO}_2\text{(g+l)}}$ je látkové množství vyprodukovaného CO₂ v kapalně i plynné fázi, V_{g} a V_{l} objem plynné a kapalně fáze systému, K_{lg} limitní formální rozdělovací koeficient CO₂ platný při pH < 4, pK_1 disociační konstanta H₂CO₃ do prvního stupně v závislosti na aktuální iontové síle kapalně fáze, pH aktuální pH kapalně fáze v okamžiku GC analýzy a $c_{\text{CO}_2\text{g}}$ koncentrace CO₂ v plynné fázi uzavřeného systému zjištěná GC analýzou.

Nalezené množství CO₂ resp. O₂ bylo přepočteno vzhledem k vzniklému/spotřebovanému teoretickému množství CO₂/O₂ za předpokladu úplné oxidace testovaného vzorku a vyjádřeno parametry D_{CO_2} nebo D_{O_2} . Časová závislost byla regresně zpracována podle rovnice (2) v zásadě dobře popisující průběh biologického rozkladu:

$$D_{\text{CO}_2} = D_{\text{CO}_2\text{max}} \times \left(1 - e^{-k \cdot (t - t_{\text{lag}})} \right) \quad (2)$$

kde $D_{\text{CO}_2\text{max}}$ je regresní koeficient vyjadřující limitní hodnotu v čase nekonečno, k hodnota rychlostní konstanty a t_{lag} posun na časové ose vyjadřující lagovou fázi. Zpracované křivky jsou průměrem z 5 paralelních stanovení s odpovídajícím 95% intervalem spolehlivosti.

Výsledky a diskuse

Práce navázala na předchozí výzkum provedený na pracovišti, který se týkal ověření různých alternativ testo-

Tabulka I

Přehled vzorků testovaných na respirometru Micro-Oxymax ve vodním a půdním prostředí

Vzorek	Charakteristika	TC ^b [mg g ⁻¹]	CHSK _{Cr} [mg g ⁻¹]
Sloviol 88-08	viskozita 4% vodného roztoku při 20 °C 8 mPa s, obsah acetátových skupin 12 %, stupeň hydrolyzy 88 mol.%, prášková forma, výrobce Novácké chemické závody a.s., SR	474,8	1 479
Škrob GS/14/30	složení: škrob Meritena ^a : glycerol = 2 : 1, vývojový produkt katedry plastů a kaučuku STU v Bratislavě, SR	368,4	937
D 97/235	složení: Poval 205 69,8 %, škrob GS/14/30 15,1 %, glycerol 10,1 %, lignin 5,0 %	464,4	1 526
D 97/236	složení: Poval 205 69,8 %, škrob Meritena ^a 10,1 %, glycerol 15,1 %, Hykol E 5,0 %	443,5	1 513

^a Škrob Meritena = přírodní neupravený kukuřičný škrob, Amylum a.s., SR, ^b obsah IC prakticky zanedbatelný

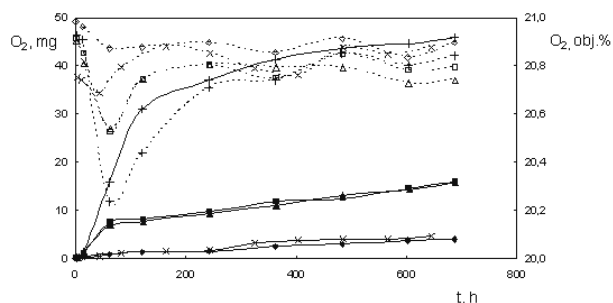
vání biologické rozložitelnosti plastů ve vodním a půdním prostředí. Doposud publikované práce^{16,17} se zabývaly především návrhem vhodných experimentálních podmínek testů biologické rozložitelnosti (pro GC a IČ analýzu produkovaného CO₂) a relací naměřených výsledků s výsledky standardních postupů^{1,2,5} testování biorozkladu ve vodách či půdách.

Experimentální „výstupy“ při testech biologické rozložitelnosti z respirometru Micro-Oxy max

Spotřeba O₂

Stanovené koncentrace O₂ v plynné fázi pro jednotlivé vzorky včetně příslušného slepého pokusu jsou uvedeny na obr. 3 (pro testy ve vodním prostředí) resp. obr. 4 (pro půdní testy). Současně je na obrázcích vyjádřena kumulativní spotřeba kyslíku pro dané měřicí pozice (spotřeba O₂ vyjádřena v absolutní hodnotě). Jak je patrné z obr. 3, změna koncentrace O₂ v plynné fázi testovacích lahví u vodních testů byla velmi malá. Obsah O₂ se během testu pohyboval v rozmezí 20,95–20,20 obj.%. Malé koncentrační změny O₂ během testu byly očekávané, neboť souvisely se zvolenými experimentálními podmínkami testů (poměrem objemů plynné a kapalné fáze a výchozí koncentrací substrátu) volenými s ohledem na uplatnění acidobazické rovnováhy CO₂ dle rovnice (1). Podmínky testů biologického rozkladu vyplývající z modelu acidobazické rovnováhy kladou vysoké požadavky na přesnost a citlivost stanovení analyzovaných složek (CO₂ i O₂)¹⁶. Z důvodu malých koncentračních změn O₂ tak nebyl prováděn „refresh“ baněk v průběhu testu.

Citlivost detektoru O₂ může být popsána naměřenými hodnotami spotřeby O₂ pro slepý pokus, u kterého aktivita mikrobiálního inokula bez přítomného uhlíkatého substrátu znamenala minimální spotřebu O₂. Kumulativní spotřeba O₂ (obr. 3) byla na konci testu (tj. cca 700 hodin) zaznamenána na úrovni cca 4 mg O₂, což představovalo pokles koncentrace z původních 20,95 obj.% O₂ na hodnotu



Obr. 3. Koncentrace O₂ (čárkovaně, prázdné značky) a kumulativní spotřeba O₂ (plné křivky, plné značky) testovaných vzorků ve vodním prostředí; + GS/14/30, ■ D97/235, ▲ D97/236, ◆ slepý pokus, × PVA

cca 20,80 obj.%. Velmi malé koncentrační změny byly také zaznamenány v případě vzorku PVA, který byl půdními mikroorganismy za podmínek testu obtížně rozložitelný. Pro tento vzorek byla celková kumulativní spotřeba O₂ na úrovni cca 4,5 mg.

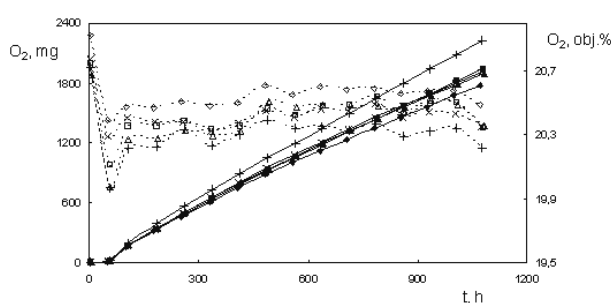
Výsledky svědčily o vysoké citlivosti paramagnetického detektoru i při malých koncentračních změnách O₂ v plynné fázi. Dle údajů výrobce umožňuje paramagnetický detektor zaznamenávat změny koncentrace O₂ v maximálním rozpětí 0–21 obj.% O₂. Aktuální měřicí rozsah detektoru je libovolně nastavitelný v maximálním pracovním rozpětí (v daném případě byl zvolen interval 19,3–21,5 obj.%). Ve zvoleném rozsahu výrobce zaručuje přesnost detektoru 0,001 obj.% O₂ po dobu až 6 hodin při rozlišení 0,002 obj.%.

V případě půdních testů byla podle očekávání zaznamenána velmi vysoká respirace samotného půdního inokula. Proto byla zvolena šestihodinová frekvence analýz a pravidelné obměňování plynné fáze čerstvým vzduchem („refresh“). Změna koncentrace O₂ v zadaném intervalu byla v rozmezí 20,95–20,00 obj.% (obr. 4, čárkované křivky), tedy v měřicím rozsahu detektoru O₂. Kumulativní spotřeba O₂ v případě slepého pokusu byla na úrovni 1780 mg O₂ na konci testu, v případě vzorků 1900 mg a vyšší.

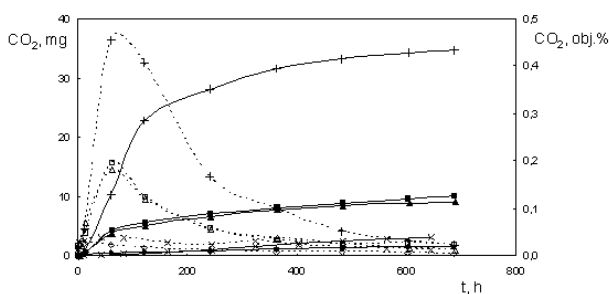
Klíčovou roli při měření O₂ hraje, vedle ostatních podmínek testu, délka měřicího intervalu; s prodlužující se délkou intervalu je změna koncentrace O₂ vyšší a vyšší je i přesnost analýzy. Nastavení frekvence analýz však musí být kompromisem mezi měřitelnou spotřebou O₂ a produkcí CO₂ s ohledem na rozsahy detektorů.

Produkce CO₂

Na obr. 5 (vodní testy) a 6 (půdní testy) jsou uvedeny naměřené bilance produkovaného CO₂ vyjádřené jako koncentrace CO₂ v plynné fázi (obj.%) a zároveň kumulativní množství produkovaného CO₂ v mg. V obou případech se jedná o původní data naměřená analyzátořem (nekorigovaná o vliv acidobazické rovnováhy CO₂ dle (1))



Obr. 4. Koncentrace O₂ (čárkovaně, prázdné značky) a kumulativní spotřeba O₂ (plné křivky, plné značky) vzorků u půdních testů; + GS/14/30, ■ D97/235, ▲ D97/236, ◆ slepý pokus, × PVA

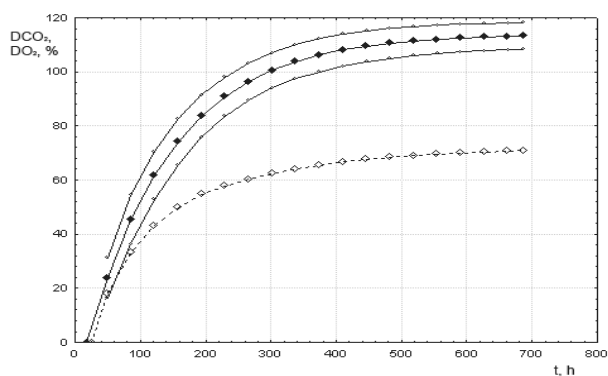


Obr. 5. Koncentrace CO_2 (čárkovaně, prázdné značky) a kumulativní produkce CO_2 (plné křivky, plné značky) vzorků u vodních testů. Data nejsou přepočtena dle rovnice (1) podle podmínek acidobazické rovnováhy; + GS/14/30, ■ D97/235, ▲ D97/236, ◆ slepý pokus, × PVA

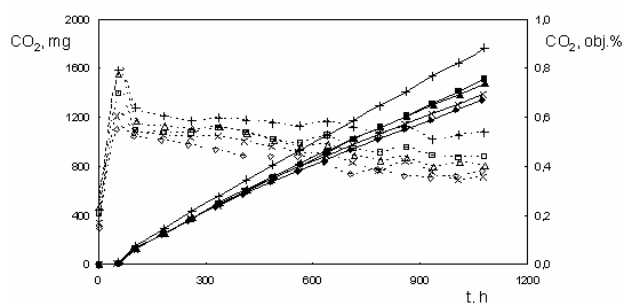
v případě vodních testů).

Za zvolených experimentálních podmínek byl detektor CO_2 schopen zaznamenávat velmi nízké koncentrace CO_2 v plynu, což bylo zřejmé především u testů ve vodním prostředí. V případě slepého pokusu bylo na konci testu vyprodukováno cca 1,5 mg CO_2 , které odpovídaly koncentraci přibližně 0,01 obj.% CO_2 . Podobné hodnoty byly také naměřeny u obtížně rozložitelného vzorku PVA (půdními mikroorganismy). Naopak v případě dobře rozložitelného škrobu GS/14/30 byla zaznamenána maximální koncentrace CO_2 na hodnotě 0,50 obj.% CO_2 . U žádného testu nedošlo k překročení měřicího rozsahu detektoru (max. 0,9 obj.%).

Jak již bylo zmíněno dříve, i při vypnutém proplachu baněk („refresh“) nezůstával vyprodukovaný CO_2 kumulován v plynné fázi baňky, nýbrž byl postupně ředěn vzduchem (*Refresh Air*) při analýzách předcházející baňky (pozice). To dokládá postupný pokles křivek (čárkované křivky) na obr. 5 z maxima až téměř k nulové koncentraci CO_2 .



Obr. 7. Průběh biologického rozkladu škrobu GS/14/30 ve vodním prostředí podle produkce CO_2 (plné křivky) a spotřeby O_2 (čárkovaně); průběh D_{CO_2} vyznačen včetně 95% intervalu spolehlivosti; ◆ analýza CO_2 , ◇ analýza O_2

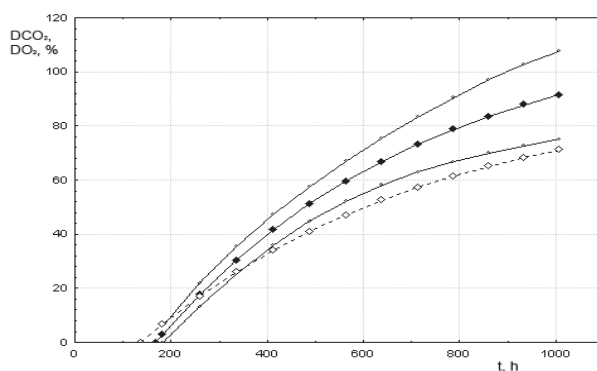


Obr. 6. Koncentrace CO_2 (čárkovaně, prázdné značky) a kumulativní produkce CO_2 (plné křivky, plné značky) vzorků u půdních testů; + GS/14/30, ■ D97/235, ▲ D97/236, ◆ slepý pokus, × PVA

U půdních testů byly koncentrace CO_2 v plynu řádově vyšší, pohybovaly se v rozmezí 0,4 až 0,80 obj.% v závislosti na rozložitelnosti vzorku. Vysoké koncentrace CO_2 odpovídaly vysoké produkci CO_2 samotným půdním materiálem; ty se pohybovaly v intervalu 0,3–0,5 obj.% CO_2 (hodnoty pro slepý pokus). Také požadavek alespoň 10% rozdílu celkové produkce CO_2 mezi slepým pokusem a testovaným vzorkem doporučený dle normy² byl s výjimkou vzorku PVA dodržen.

Hodnocení biologické rozložitelnosti vzorků

Naměřené kumulativní produkce CO_2 (obr. 5 a 6, plné křivky) byly vztaženy na teoretické množství CO_2 vzniklé za předpokladu úplné oxidace substrátu (vypočítáno z hodnoty TC – obsah celkového organického uhlíku) a vyjádřeny parametrem D_{CO_2} . U vodních testů (obr. 5) bylo provedeno až po přepočtu kumulativních hodnot CO_2 dle rovnice (1). Kumulativní spotřeba O_2 byla analogicky vy-



Obr. 8. Průběh biologického rozkladu škrobu GS/14/30 v půdě podle produkce CO_2 (plné křivky) a spotřeby O_2 (čárkovaně); průběh D_{CO_2} vyznačen včetně 95% intervalu spolehlivosti; ◆ analýza CO_2 , ◇ analýza O_2

jádřena parametrem D_{O_2} – procento spotřeby O_2 versus oxidovatelnost $CHSK_{Cr}$.

Na obr. 7 je graficky znázorněn průběh biologického rozkladu škrobu GS/14/30 ve vodním prostředí, na obr. 8 pak průběh biorozkladu téhož vzorku v půdním prostředí. Výsledky vypočtené podle rovnice (2) jsou pro všechny vzorky uvedeny v tab. II.

Hodnoty parametru D_{CO_2} jsou znázorněny s 95%

intervalem spolehlivosti (obr. 7 a 8, tab. II). Podle očekávání byla statistická odchylka výrazně vyšší u půdních testů, u kterých nebyla prováděna pravidelná homogenizace protřepáním v průběhu testu. V takových případech bylo nutné provádět více paralelních testů (minimálně 5× vedle sebe).

Podle očekávání byl biologický rozklad vzorků výrazně pomalejší v půdním prostředí s delší lagovou fází

Tabulka II

Hodnoty D_{CO_2} , D_{O_2} , rychlostních konstant a délky lagové fáze (t_{lag}) u vzorků testovaných ve vodním a půdním prostředí

Č.	Vzorek	$D_{CO_2 \max}$ [%]	$D_{O_2 \max}$ [%]	$10^3 k$ [h^{-1}]	t_{lag} [h]	Poznámka
1	Škrob GS/14/30	109,1 ± 4,9	---	8,2	18,2	vodní prostředí – CO ₂
2	Škrob GS/14/30	91,4 ± 16,3	---	3,8	168,9	půdní prostředí – CO ₂
3	Škrob GS/14/30	---	70,9	8,0	25,3	vodní prostředí – O ₂
4	Škrob GS/14/30	---	71,2	3,6	137,3	půdní prostředí – O ₂
5	PVA 88-08	7,2 ± 1,1	---	5,1	185,2	vodní prostředí – CO ₂
6	PVA 88-08	10,9 ± 5,8	---	4,1	235,2	půdní prostředí – CO ₂
7	PVA 88-08	---	---	---	---	vodní prostředí – O ₂
8	PVA 88-08	---	10,5	3,7	221,6	půdní prostředí – O ₂
9	D 97/235	25,7 ± 3,3	---	7,4	36,6	vodní prostředí – CO ₂
10	D 97/235	27,7 ± 9,9	---	3,9	245,2	půdní prostředí – CO ₂
11	D 97/235	---	19,6	6,2	42,3	vodní prostředí – O ₂
12	D 97/235	---	21,4	3,8	230,4	půdní prostředí – O ₂
13	D 97/236	29,6 ± 3,1	---	7,6	42,3	vodní prostředí – CO ₂
14	D 97/236	23,7 ± 7,0	---	3,9	233,1	půdní prostředí – CO ₂
15	D 97/236	---	24,0	6,2	42,3	vodní prostředí – O ₂
16	D 97/236	---	16,4	3,8	222,5	půdní prostředí – O ₂

Tabulka III

Doplňkové analýzy vodních a půdních testů

Č.	Vzorek	pH ₀	pH ₁	sušina ₀ [%]	sušina ₁ [%]
<i>Testy ve vodním prostředí</i>					
1	Slepý pokus	7,19	7,19	---	---
2	Škrob GS/14/30	7,19	7,20	---	---
3	Sloviol 88-08	7,18	7,18	---	---
4	D 97/235	7,19	7,17	---	---
5	D 97/236	7,19	7,17	---	---
<i>Testy v půdním prostředí</i>					
6	Slepý pokus	6,45	6,39	48,9	46,2
7	Škrob GS/14/30	6,45	6,51	48,9	42,1
8	Sloviol 88-08	6,45	6,36	48,9	46,0
9	D 97/235	6,45	6,33	48,9	42,8
10	D 97/236	6,45	6,32	48,9	42,6

Pozn.: Index „0“ odpovídá hodnotám na začátku testu, index „1“ hodnotám na konci testu

(tab. II). Výjimkou byl vzorek PVA, u něhož byla zaznamenána přibližně stejná délka lagové fáze bez ohledu na typ prostředí a hodnotící kritérium (CO_2 i O_2). U tohoto vzorku však nebylo možné popsat průběh biorozkladu ve vodním prostředí parametrem D_{O_2} . Za podmínek testu byly změny koncentrace O_2 v plynné fázi velmi malé (pohybovaly se přibližně na úrovni slepého pokusu), zatížené velkou experimentální chybou. Jak dále vyplývá z tab. II, byly zjištěny srovnatelné hodnoty rychlostních konstant (k) a délky lagové fáze (t_{lag}).

Tab. III uvádí výsledky doplňkových měření prováděných vždy na začátku a konci testu (pH a v případě půd stanovení obsahu vlhkosti). V případě vodních testů byly změny pH (tab. III, č. 1–5) reakční suspenze v průběhu testu malé ($\text{max.} \pm 0,02$) a jimi způsobený posun v acidobazické rovnováze mohl vést k maximálně 2,5% změně koncentrace CO_2 v plynné fázi (počítáno dle (1)). V případě půdních testů (č. 6–10) došlo k poklesu pH půdního materiálu i mírnému poklesu obsahu vody v půdě. Uvedené změny zřejmě podstatněji neovlivnily průběh rozkladu vzorků.

Závěr

Účelem práce bylo informování o možnostech automatického respirometru Micro-Oxymax při testech biologické rozložitelnosti makromolekulárních látek v různých typech prostředí (vodní a půdní testy). Nalezení a ověření vhodných experimentálních podmínek testů bylo provedeno v předcházejících studiích^{16,17}. Z experimentů provedených v předložené práci vyplynulo následující:

- a) Detektor O_2 je schopen monitorovat změny koncentrace O_2 v max. rozpětí 0–21 obj.% O_2 . Pracovní rozsah detektoru je volitelný (v dané studii 19,3–21,5 obj.%). Ve zvoleném rozsahu výrobce zaručuje přesnost analýzy 0,001 obj.% O_2 .
 - Vhodné pracovní rozmezí detektoru O_2 je při změně koncentrace O_2 na úrovni 0,10 obj.% a více.
 - Problémy s citlivostí mohou nastat u vodních testů biologického rozkladu (především u obtížně rozložitelných látek), u kterých je změna koncentrace O_2 v plynné fázi velmi malá (na úrovni 0,1 obj.% O_2 nebo nižší). V těchto případech jsou výsledky zatíženy velkou experimentální chybou a tedy prakticky nepoužitelné (zde případ obtížně rozložitelného vzorku PVA).
- b) Detektor CO_2 (měřicí rozsah do 0,9 obj.% CO_2) deteguje minimální koncentraci cca 0,001 obj.% CO_2 v plynné fázi.
 - Nevýhodou je poměrně omezený pracovní rozsah detektoru (max. 0,9 obj.%). Při použité frekvenci analýz (vodní testy 10 hodin, půdní testy 6 hodin) jsou hodnoty produkce CO_2 v měřicím rozsahu detektoru.
 - V případě testů ve vodním prostředí je nutno celkové naměřené množství CO_2 přepočítat s ohledem na acidobazickou rovnováhu CO_2 dle rovnice (1). Změna pH kapalné fáze v průběhu testu je za použitých pod-

mínek velmi malá (cca 0,02 jednotky pH), posun acidobazické rovnováhy CO_2 vyvolaný touto změnou může vést k maximálně 2,5% změně koncentrace CO_2 v plynu.

- c) Testy biorozložitelnosti je nutné provádět v dostatečném počtu paralelních opakování. Na základě dosavadních zkušeností lze doporučit provedení vždy 3 paralelních testů ve vodním prostředí (nepřetržitě míchaných) a minimálně 5 paralelních půdních testů (bez průběžné homogenizace).

Respirometr Micro-Oxymax lze plně doporučit pro testování biologické rozložitelnosti vzorků ve vodním i půdním prostředí. Výhodou jeho použití je plně automatizovaný provoz a současné analýzy obsahu CO_2 a O_2 v rámci jednoho testu. Nevýhodou je omezený počet testovacích pozic (podle konfigurace přístroje 10 až 80) a samozřejmě cena zařízení.

Práce vznikla za podpory Výzkumného záměru Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky, MSM 7088352101.

LITERATURA

1. *International Standard ISO 14852 – Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials in an aqueous medium – Method by analysis of evolved carbon dioxide*, 1999.
2. *International Standard ISO 17556 – Plastics – Determination of the ultimate aerobic biodegradability in soil by measuring the oxygen demand in a respirometer or the amount of carbon dioxide evolved*, 2003.
3. Pagga U., Schäfer A., Müller R. J., Pantke M.: *Chemosphere* 42, 319 (2001).
4. Jayasekara R., Lonergan G., Harding I., Bowater I., Halley P., Christie G. B.: *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 76, 411 (2001).
5. *International Standard ISO 14851 – Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials in an aqueous medium – Method by measuring the oxygen demand in a closed respirometer*, 1999.
6. Strotman U., Schwarz H., Pagga U.: *Chemosphere* 30, 525 (1995).
7. Calmon A., Dusserre-Bresson L., Bellon-Maurel V., Feuilloley P., Silvestre F.: *Chemosphere* 41, 645 (2000).
8. Battersby N. S.: *Chemosphere* 34, 1813 (1997).
9. Degli-Innocenti F., Tosin M., Bastioli C.: *J. Polym. Environ.* 6, 197 (1998).
10. Miles R. A., Doucette W.: *Chemosphere* 45, 1085 (2001).
11. Strotmann U., Reuschenbach P., Schwarz H., Pagga U.: *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 4621 (2004).
12. Száraz L., Beczner J., Kayser G.: *Polym. Degrad. Stab.* 81, 477 (2003).
13. Plaza G., Ulfing K., Worsztynowicz A., Malina G., Krzeminska B., Brigmon R. L.: *Environ. Technol.* 26, 161 (2005).

14. Hollender J., Althoff K., Mundt M., Dott W.: *Chemosphere* 53, 269 (2003).
15. Lizama H. M., Zielinski P. A., Kerby L. D., Abraham C. C.: *Biotechnol. Bioeng.* 77, 111 (2002).
16. Dřimal P., Hrnčířik J., Hoffmann J.: *J. Polym. Environ.* 14, 309 (2006).
17. Dřimal P., Hoffmann J.: *Polym. Test.*, v tisku.
18. Itävaara M., Karjomaa S., Selin J. F.: *Chemosphere* 46, 879 (2002).
19. Grima S., Bellon-Maurel V., Silvestre F., Feuilloley P. A.: *J. Polym. Environ.* 9, 39 (2001).
20. Hoffmann J., Řezníčková I., Rozsypalová L., Julinová M., Alexy P., Bakoš D.: *Plasty Kauc.* 40, 295 (2003).

P. Dřimal and J. Hoffmann (*Department of Environmental Protection Engineering, Faculty of Technology, Tomas Bata University, Zlín*): **Fully Automated System of Continual Testing of Aerobic Biodegradability in Aqueous or Soil Environment**

The aim of this work was to introduce a unique device – fully automated respirometer Micro-Oxymax (Columbus Instruments Corp., Ohio, USA) which can be used for testing aerobic biodegradability of plastics in aerobic aqueous or soil environment. The O₂ consumption and CO₂ production in gas phase of the test chambers are measured periodically in 30 parallel tests in our respirometer arrangement. The selected experimental conditions of the biodegradability tests were based on the prior research focused on reproducibility and repeatability of the measurements. The results of this study indicate that the respirometer application in aerobic biodegradability is very effective. It provides comparable results with other methods (acidimetric or GC determination of CO₂ production), is incomparably less laborious and shows a high testing capacity (up to 80 measuring chambers at a time).

VŠCHT Praha přijme na Ústav biochemie a mikrobiologie odborného pracovníka.

Požadavky:

- VŠ vzdělání přírodovědného zaměření,
- znalost technik molekulární biologie.

Nabízíme:

- místo ve výzkumném centru **REMOROST**: Regulace morfogeneze rostlinných buněk a orgánů,
- zajímavou práci na moderně vybaveném pracovišti,
- příležitost k osobnímu rozvoji,
- pracoviště v blízkosti metra,
- zaměstnanecké výhody (šest týdnů dovolené, pružnou pracovní dobu, příspěvek na stravování, rekreaci, penzijní připojištění, návštěvu kulturních zařízení).

Nástup: 1.3. 2008, na dobu určitou (3 roky)

Kontakt: Ústav biochemie a mikrobiologie, prof. RNDr. Olga Valentová, CSc.,
e-mail: olga.valentova@vscht.cz, tel. 220 445 102

GC-MS ANALÝZY PRÍRODNÝCH BANÁNOVÝCH ARÓM

LUKÁŠ GREMEŇ^a, PETRA MORAVČÍKOVÁ^a
a PETER FODRAN^b

^a Ústav biochémie výživy a ochrany zdravia, Oddelenie výživy a hodnotenia potravín, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, ^b FLOP, Gercenova 33, 851 01 Bratislava
moravcikova.p@gmail.com

Došlo 15.2.06, prepracované 24.4.07, prijaté 15.6.07.

Kľúčové slová: GC/MS, banánová aróma, prírodná aróma

Úvod

Analýzam prírodnej banánovej arómy bola a stále je venovaná mimoriadna pozornosť, najmä z dôvodov výroby kvalitných potravinárskych aróm. Kvalita prvých analýz od roku 1905 (cit.¹) do roku 1961 (cit.²) bola výrazne limitovaná možnosťami klasických techník organickej chémie. Prvé chromatografické analýzy výrazne rozšírili rozsah poznatkov o zložení banánových aróm³. Ďalším veľkým pokrokom pri analýze prírodných materiálov bola kombinácia plynovej chromatografie s hmotnostnou spektroskopiou⁴. Aj napriek týmto nesporným pokrokom v analýze banánových prírodných aróm sa ani zďaleka nedá povedať, že sú známe všetky komponenty, najmä minoritné a subminoritné, s mimoriadne vysokou senzoricou výdatnosťou. V oblasti analýz stopových komponentov banánovej arómy je veľmi zaujímavá práca Bergera a spol.⁵, ktorí analyzovali celý súbor subminoritných látok v banánovej aróme, v koncentráciách 5–40 µg / 100 g. V súčasnosti sa na analýzu banánových aróm používajú rôzne metódy. Základ je vždy plynová chromatografia, pričom sa nevyklučuje okrem detekcie jednotlivých obsahových zložiek hmotnostnou spektroskopiou aj napríklad „sniffing metóda“ (olfaktorická, teda senzoricá metóda), kde ako detektor je analytik, ktorý senzoricke hodnotí jednotlivé frakcie opúšťajúce kolónu, i napriek výraznej subjektivite pri vyhodnocovaní záznamu⁶. Čo sa týka analyzovanej zmesi ide väčšinou o extrakty z ovocia, sporadicky sa využíva „head space“ metóda, kde sa analyzuje súbor zložiek ovocia odprchávaných z analyzovaného materiálu a unášaných hnacím plynom, ktorá však nedáva reprezentatívne výsledky⁷, vzhľadom k veľkému rozptylu medzi výsledkami analýz dosiahnutými „head space“ metódou a inými metódami izolácie prchavých zložiek.

Najdôležitejším faktorom pri analýze banánovej prírodnej arómy je úprava ovocia. Banán je z hľadiska sen-

zorických vlastností ovocím mimoriadne háklivým. Nie je jedno, v akom štádiu dozrievania sa materiál extrahuje, pretože prítomný enzýmový aparát v ovocí postupne hydrolyzuje glykozidicky viazané alkoholy a najmä fenoly, takže senzoricke charakter ovocia sa mení od banánovo-zeleného až po banánovo-klinčekový, čo je dôsledok uvoľňovania fenolov eugenolového typu. Samozrejme na kvalitu prírodnej banánovej arómy výrazne vplýva vzhľadom na pôdno-klimatické podmienky proveniencie a tiež aj odroda ovocia použitého na analýzu. Z tohoto dôvodu teda výrazne kolíše kvantitatívne zloženie banánových aróm. Preto napríklad výsledky dosiahnuté Tresslom⁸, ktorý udáva pomer esterov : alkoholom : karbonylom na približne 95 : 4 : 1, sú v príkrom rozpore s niektorými ďalšími analýzami. Najväčšiu odchýlku od ostatných analýz vykazuje jednoznačne Shiotova práca⁹, ktorý ako absolútne dominantnú komponentu banánovej arómy izolovanej z filipínskych plodov identifikoval pentán-2-ón, v množstve 23,3 %, čo je raritný výsledok.

Z analýz uvedených v literatúre jednoznačne vyplýva, že pre typický charakter banánovej arómy sú dôležité najmä izoamylacetátové estery, s vhodným doplnkom „zelených“ komponentov, ako sú (*Z*)-3-hexenol, (*E*)-2-hexenal a niektoré olefinické ketóny. Tieto látky sú typické pre banánovú šupu, pre dužinu okrem už uvedených najmä substituované alylfenoly.

Experimentálna časť

Chemikálie a prístroje

Dietyléter, dichlórmetán p.a kvality (Mikrochem SR), etylalkohol jemná rafináda (SLL SR)

Destilačná kolóna 35 teoretických prepážok (Schott & Gen, Jena, BRD), plynový chromatograf HP 5890 II s detektorom MSD 5071A (obojí Hewlett-Packard, USA).

Podmienky

Pec:

Počiatočná teplota 60 °C (On), začiatok detekcie 1,00 min, maximálna teplota 325 °C, rovnovážny čas 0,50 min.

Vstup:

Mód Split, počiatočná teplota 250 °C (On), tlak 72,9 kPa (On), deliaci pomer 30 : 1, prietok nosného plynu deličom 36,4 ml min⁻¹, celkový prietok 40,7 ml min⁻¹, typ plynu: He.

Kolóna:

DB-Wax, 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm; 60 °C min⁻¹, 10 °C min⁻¹ do 250 °C, typ plynu: He, 13 psi.

MSD:

m/z 29–400 dalton, záznam celého hmotnostného spektra, 1,16 sken s⁻¹.

Použitá databáza:
NIST02.L

Úprava a spracovanie vzoriek

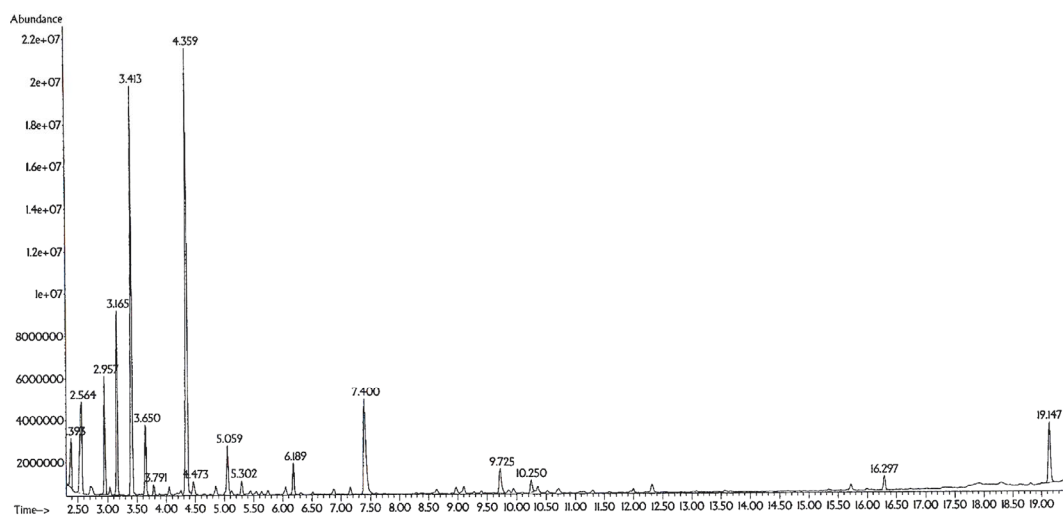
2,5 kg importovaných banánov (Guadaloupe a Martinique) sa naplátkuje na cca 3 cm veľké časti a perkoluje sa 2 × 2,5 litrami dietyléteru a následne 2 × 2,5 litrami dichlórmetánu. Každý perkolačný cyklus trvá 2 hodiny. Perkolačný roztok sa opatrne zahustí oddestilovaním rozpúšťadiel na destilačnej aparatúre opatrenej destilačnou kolónou. Koncentrované perkoláty sa spoja a zahustia na objem cca 50 ml. K destilačnému zvyšku sa pridá 10 ml etylalkoholu a destiluje sa ďalej tak, aby teplota na destilačnej hlave nepresiahla 42 °C. Takto sa oddestiluje dominantná časť rozpúšťadiel použitých na perkolačnú

aromatických zložiek banánov. Z takto vzniknutej suspenzie ochladením vypadnú vosky, ktoré sa odsajú na Büchnerovom lieviku, roztok sa mimoriadne opatrne odplyní, stanoví sa zvážením celkový výťažok, koncentrovaný perkolát sa zriedi etanolom na cca 10% koncentráciu a roztok sa podrobí GC-MS analýze.

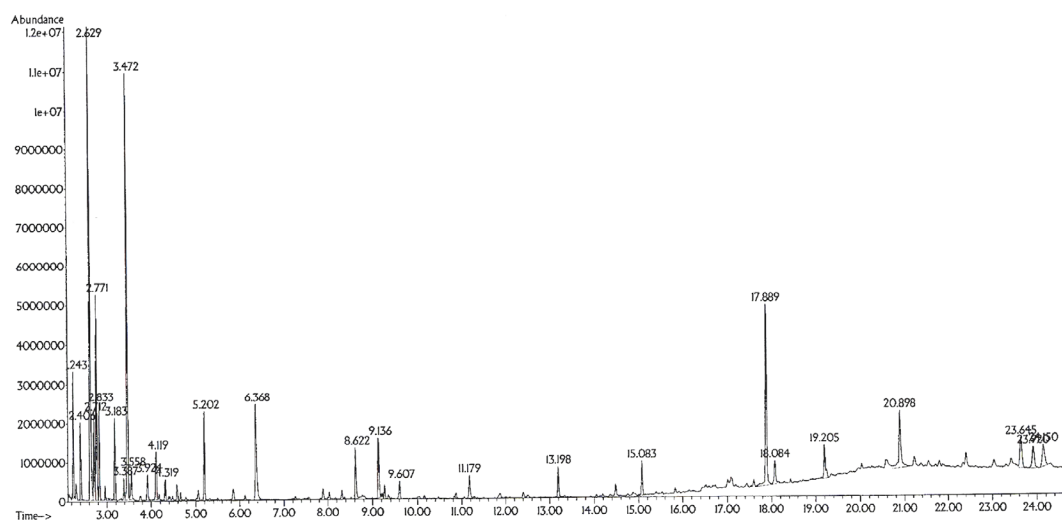
Výťažky prírodných banánových aróm v absolútnom hmotnostnom vyjadrení a v zodpovedajúcom percentuálnom vyjadrení

Import Guadaloupe: 150 mg/2,5 kg, 0,006 % (viď tabuľka I a obr. 1).

Import Martinique: 56 mg/2,5 kg, 0,00224 % (viď tabuľka II a obr. 2).



Obr. 1. GC/MS chromatogram banánového extraktu, odroda Martinique



Obr. 2. GC/MS chromatogram banánového extraktu, odroda Guadaloupe

Výsledky GC-MS analýz perkolátov dokumentujú obr. 1 a 2 a tabuľky I a II.

Diskusia a závery

Mimoriadne dôležitým faktorom pri analýze prírodných látok, najmä mnohozložkových zmesí, ako sú napr. aj prírodné arómy, je metóda izolácie. Optimálnym riešením je extrakcia, prípadne perkolácia obsahových látok do organických rozpúšťadiel. Použitie iných metód, ako je napr. destilácia s vodnou parou vo všeobecnosti nedáva dobré, ale najmä nie reprodukovateľné výsledky. Samozrejme že aj extrakcia alebo perkolácia prírodných látok je metóda chýlostivá, kde treba vhodne voliť používané rozpúšťadlá. Obyčajne sa volí kombinácia takých rozpúšťadiel, kde je zaručený maximálny výťažok obsahových látok, pričom pri koncentrácii miscely nedochádza k strhávaniu obsahových látok rozpúšťadlom. V prípade izolácie banánových prírodných aróm sa preto pristúpilo k použitiu dietyléteru a dichlórmetánu, pričom perkolácia bola realizovaná postupne, najprv dietyléterom a následne dichlórmetánom. Táto postupnosť nebola náhodná, ale cieľená, pretože sa dá predpokladať, že dietyléter vzhľadom k svojej relatívne dobrej rozpustnosti vo vode bude

Tabuľka I

Zlúčeniny identifikované GC/MS analýzou, banánový extrakt, odroda Martinique. Uvedené sú retenčné časy zlúčenín (min) a relatívne plochy pík (%)

Pík	Retenčný čas [min]	Plocha [%]	Zlúčenina
1	2,392	2,83	2-pentanón
2	2,566	7,61	2-metylpropylacetát
3	2,951	4,83	1-metylpropylacetát
4	3,165	8,30	2-metyl-1-propanol
5	3,409	19,36	3-metyl-1-butyl-acetát
6	3,653	4,49	1-butanol
7	3,795	0,60	2-metylpropylbutyrát
8	4,365	26,22	3-metyl-1-butanol
9	4,479	1,09	(E)-2-hexenal
10	5,065	3,10	3-metylbutylbutyrát
11	5,308	0,95	3-hydroxy-2-butanón
12	6,190	2,06	1-hexanol
13	7,396	9,14	kyselina octová
14	9,723	2,15	kyselina maslová
15	10,247	0,96	kyselina 3-metyl maslová
16	16,296	1,12	1,2,3-trimetoxy-5-(2-propenyl) benzén
17	19,144	5,20	3,4-dimetoxy-1-(2-propenyl) benzén

eliminovať enzýmový aparát ovocia, čo je mimoriadne dôležité najmä z hľadiska ďalšieho uvoľňovania aromatických zložiek ovocia, najmä fenolov.

Pri vyhodnocovaní analýz prírodných banánových aróm sa prišlo k viacerým prekvapujúcim zisteniam. V perkoláte z ovocia importovaného z Guadaloupe sa identifikovala zmes všetkých troch dimetylbenzénov (xylénov) v enormnom zastúpení vzhľadom na relatívne plochy pík v percentuálnom zastúpení. V tomto prípade evidentne nemôže ísť o metabolit, ale ide najskôr o penetráciu zvyšku rozpúšťadiel z ofsetovej potlače na obale. Toto zdôvodnenie sa zdá byť relevantným vzhľadom k mimoriadne nízkemu absolútnemu zastúpeniu týchto zlúčenín v perkoláte, i napriek vysokému percentuálnemu podielu v perkoláte, ktorý je pod 5 mg kg⁻¹ plodov. Zaujímavý je tiež extrémne vysoký obsah organických kyselín v arómach, ktorý v takýchto objemoch nebol identifikovaný. Pritom v aróme z Martinique je suma kyseliny octovej a kyseliny maslovej viac ako 11 % a v aróme z Guadaloupe bol identifikovaný celý súbor organických kyselín, kde dve predchádzajúce sú rozšírené o kyselinu 3-metyl maslovú (izovalérovú) a kyselinu valérovú, pričom celkový obsah kyselín je zrovnateľný s predchádzajúcim prípadom. Tento fakt môže byť spôsobený rozdielnymi pôdno-klimatickými podmienkami na jednotlivých ostrovoch. Ďalšie obsahové látky nami analyzovaných banánových aróm, ako 3-metylbutyl acetát a 3-metylbutanol vcelku korešpondujú s obsahmi hodnôt týchto látok, ktoré boli namerané inými autormi. Je dosť prekvapujúci zvýšený obsah (E)-2-hexenalu s porovnaním s analýzami publikovanými inými autormi, čo môže byť dôsledok odlišnej izolačnej techniky. Jednoznačným prínosom našej analýzy je identifikácia 3-metyl (E)-4-hexén-2-ónu v perkoláte z plodov z Guadaloupe, ktorý bol vôbec prvýkrát identifikovaný v banánovej aróme a tiež vanilínu (3-metoxy-4-hydroxy benzaldehydu) a škoricového aldehydu taktiež prvýkrát identifikované ako komponenty prírodnej banánovej arómy. Všetky tri obsahové látky sú obsiahnuté v množstvách presahujúcich 1 %, teda nemôže ísť o artefakty. Všetky tri zlúčeniny boli identifikované ako súčasť perkolátu z ovocia importovaného z Guadaloupe, teda ich prítomnosť v ovocí bude spôsobená rozdielnymi pôdno-klimatickými faktormi, pretože podľa vzhľadovej analýzy ide o ten istý typ ovocia. Skutočným problémom sa zdá byť biogéniza oboch aromatických aldehydov, t.j. vanilínu a škoricového aldehydu, pretože žiaden autor neuvažuje s eventualitou existencie metabolickéj cesty vedúcej k týmto zlúčeninám. Jednoznačným príkladom je Tresslova⁹ vysoko fundovaná práca. Jediným vysvetlením môže byť odlišnosť enzymatického aparátu existujúceho prakticky výlučne v ovocí pestovaného v tejto proveniencii, pretože prítomnosť potrebných prekurzorov, kyseliny ferulovej pre vanilín a kyseliny škoricovej pre škoricový aldehyd bola dokázaná aj v iných typoch banánov¹⁰. Je treba venovať tiež pozornosť absencii nízkovrúcich zložiek v oboch prírodných arómach. Senzorickým vyhodnotením regenerovaných perkolačných rozpúšťadiel neboli identifikované ani stopy po karbonylo-

Tabuľka II

Zlúčeniny identifikované GC/MS analýzou, banánový extrakt, odroda Guadeloupe. Uvedené sú retenčné časy zlúčenín (min) a relatívne plochy píkov (%)

Pík	Retenčný čas [min]	Plocha [%]	Zlúčenina
1	2,240	3,43	2-pentyl acetát
2	2,412	2,73	2-metyl-1-propanol
3	2,624	15,49	izoamyl acetát
4	2,711	3,45	1,4-dimetylbenzén
5	2,768	7,49	1,2-dimetylbenzén
6	2,840	2,51	1-butanol
7	3,181	2,58	1,3-dimetyl benzén
8	3,380	0,62	undekán
9	3,466	15,11	3-metyl-1-butanol
10	3,552	1,13	2-hexenal
11	3,921	1,04	3-metyl-4-hexén-2-ón
12	4,120	2,21	2-metyl-3-metylbutylpropionát
13	4,318	0,84	1-metoxi-2-metyl-propán
14	5,197	2,88	1-hexanol
15	6,373	4,80	kyselina octová
16	8,625	2,40	kyselina maslová
17	9,136	2,95	kyselina 3-metyl maslová (izovalérová)
18	9,607	0,88	2-metyl-3-butén-2-ol
19	11,183	1,08	kyselina valérová
20	13,204	1,39	škoricový aldehyd
21	15,076	1,54	1,2,3-trimetoxy-5-(2-propenyl)-benzén
22	17,891	8,07	2,6-dimetoxy-4-(2-propenyl)-fenol
23	18,084	1,68	vanilín (3-metoxi-4-hydroxy benzaldehyd)

vých zlúčeninách s teplotou varu pod 30 °C, prípadne nízkovrúcich esteroch, tiež test s dinitrofenylhydrazónium perchlorátom bol negatívny, z čoho sa dá jednoznačne usúdiť, vzhľadom k citlivosti testu, že najmä nízkovrúce karbonylové zlúčeniny v oboch perkolátoch chýbajú. Pri senzorickej analýze perkolátov bolo konštatované, že ide o markantný rozdiel v senzorickej kvalite aróm, pričom

prírodná banánová aróma ovocia z Guadeloupe bola vyhodnotená ako senzorickejšia, charakteristickejšia, májúca typickú príjemnú mätko zeleno-banánovú vôňu a chuť. Rozdiel je treba jednoznačne pripísať na vrub novo identifikovaným zložkám prírodnej banánovej arómy izolovanej z ovocia z Guadeloupe.

Autori ďakujú za podporu tejto práce prostredníctvom projektov APVV-20-005605 a VEGA/1/3579/06. Ďakujeme Ing. Emilovi Kolekovi za vykonanie GC/MS analýzy.

LITERATÚRA

1. Rothenbach F., Eberlein L.: Dtsch. Essigind. 9, 81 (1905).
2. Hultin H. O., Procter B. E.: Food Technol. 15, 440 (1961).
3. Issenberg P., Wick E. L.: J. Agric. Food Chem. 11, 3 (1963).
4. Isenberg P.: Food Technol. 23, 103 (1969).
5. Berger R. G., Drawert F., Kollmannsberger H.: Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm. 10, 120 (1986).
6. Mayr D., Märk D., Van Ruth S. M.: Eur. Food Res. Technol. 217, 291 (2003).
7. Myers M. J., Issenberg P., Wick E. L.: J. Food Sci. 34, 504 (1969).
8. Tressl R., Drawert F., Heimann W.: Z. Lebensm.-Unters.-Forsch. 142, 249 (1970).
9. Shiota H.: J. Agric. Food Chem. 41, 2056 (1993).
10. Tressl R., Drawert F.: J. Agric. Food. Chem. 21, 560 (1973).

L. Gremeň^a, P. Moravčíková^a, and P. Fodran^b
^a*Institute of Biochemistry, Nutrition and Health Protection, Department of Nutrition and Food Assessment, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak Technical University, Bratislava,* ^b*FLOP Co., Bratislava): GC-MS Analysis of Natural Banana Flavours*

Two natural banana aromas of Caribbean origin, isolated by direct percolation, were analyzed by GC/MS. In addition to high amounts of organic acids, the Guadeloupe bananas contained vanillin, cinnamaldehyde and 3-methylhex-4-en-2-one. Quite a high content of xylene, originating probably from the solvent of the packaging offset paint, is also of interest.

VÝUKA CHEMIE

E-LEARNINGOVÝ PROGRAM SLMS CLASS A JEHO VYUŽITÍ VE VÝUCE CHEMIE NA ZÁKLADNÍCH A STŘEDNÍCH ŠKOLÁCH

JAN VEŘMIŘOVSKÝ^a
a MARTINA VRKOČOVÁ^b

^a Maticíni gymnázium Ostrava, Dr. Šmerala 25, 728 04, Ostrava, ^b ZŠ Šilheřovice, Kostelní 230, 747 15, Šilheřovice
janvermirovsky@seznam.cz, M.Vrkocova@seznam.cz

Došlo 20.2.06, přepracováno 28.5.07, přijato 21.6.07.

Klíčová slova: Learning Management System (LMS), ICT, COL (Computer On-line Learning)

Úvod

Chemii jako vyučovací předmět zasahují v poslední době diskuse návrhů na nový obsah, otázky efektivity organizačních forem, metod a postupů, stejně jako vhodnosti užívaných didaktických prostředků¹. V dnešní době dochází stále k většímu rozvoji přírodních věd, a také k rozvoji informačních a komunikačních technologií². Dnešní společnost, bez ohledu na organizační, materiální i personální zabezpečení škol, se mění na společnost informační³.

E-learning patří mezi aktivní formy učení a ve spojení s Internetem nabízí velké množství výhod v oblastech distančního vzdělávání, či jako doplněk klasické prezenční formy výuky. E-learning umožňuje získávat, zpracovávat, uchovávat, třídít, vyhledávat a prezentovat informace v multimediálním zpracování⁴. Mezi nejviditelnější výhody patří např. nezávislost na umístění vzdělávací instituce, nezávislost na konkrétním vyučujícím, možnost studia v libovolném čase i místě, možnost využití moderních prostředků a technologií⁵. Mareš⁶ označuje individuální nebo skupinové učení pomocí počítače jako elektronické učení. V praxi se užívají dvě roviny elektronického vzdělávání – interní (e-learning jako nadstavba operačního systému v dané instituci) a externí (výuka na otevřeném webovém portálu). Jako forma e-learningové výuky může být využita off-line verze (uživatel si spouští multimediu na jednom počítači, tyto kurzy jsou distribuovány např. na CD) nebo on-line verze (doplňuje off-line studium o statistické informace úspěšnosti uživatelů, času přístupu, kontinuity výuky apod.). Tyto informace pomáhají učitelům sledovat a řídit výuku⁷.

Learning Management System (LMS) patří mezi e-

learningové systémy, které lze využívat pro vytváření, správu a vyhodnocování výsledků studia. Firma SANIT s. r. o. vyvíjí do škol administračně-výukový systém SLMS Class podporující platformu MS Windows. Program lze velmi snadno upravovat a přizpůsobovat dle konkrétních požadavků. SLMS Class je multilicenční systém, který řídí výuku ve školách, kdy výuka může probíhat veřejně (pro všechny studenty) nebo cíleně (pro určitou část např. třídu)⁷. Jedná se o program, který lze zařadit mezi COL (Computer On-line Learning). Ten umožňuje vytváření, rozvoj, řízení a používání vzdělávacích materiálů prostřednictvím počítače připojeného k Internetu nebo Intranetu⁸.

Popis základních vlastností a funkcí programu SLMS Class

Cíl programu

Program byl vytvořen jako alternativní edukační nástroj pro fixační a diagnostickou fázi výchovně vzdělávacího procesu. Cílem autorů programu bylo zefektivnění výuky využitím prostředí LMS. Výše uvedený program nabízí tři varianty testování: „otázky – odpovědi“, „cvičení na souboru“ a „doplňování textu“.

SLMS Class je multilicenční program, který je pravidelně aktualizován. Program využívá operační systém MS Windows (doporučená je verze 98, 2000 nebo XP) a přístup k programu je přes Internet Explorer (vhodná je verze 6.0). Program má velmi jednoduché ovládání a lze jej flexibilně (po dohodě s autory) upravit dle typu školy.

Administrace testů zadávajícím je jednoduchá, stejně jako sledování a vyhodnocování různých variant testů. Testy si lze také po dohodě s jejich autory vyměňovat mezi školami.

Program SLMS Class je velmi efektivní – umožňuje automatické vyhodnocování testů, zobrazení výsledků testů a úspěšnosti jednotlivých otázek, procentuální úspěšnost jednotlivých studentů a tříd.

Přístup k programu je z webové adresy <http://www.msanit.cz>. Po zadání přihlašovacího jména a hesla (které zadává lektor – pedagog) se lze dostat do vlastní aplikace SLMS Class.

Žák (resp. student) má následně možnost si vypracovat pedagogem zadané testy, nebo se podívat na již absolvované testy a zhodnotit, kde udělal chybu a jaké měly být správné odpovědi. Jeho možnosti aplikací jsou omezené pouze na vyplnění a sebereflexi testů.

Pedagog má stejný přístup, ale má rozšířené možnosti, jelikož může testy nejen zadávat, ale také vyhodnocovat, a tudíž provést nejen reflexi, ale také sebereflexi. Při zadávání testů si může vybrat z různých variant (viz podkap. SLMS Class v praxi).

Pedagog může také provést diagnostiku u jednotlivých tříd, jak test dopadl, ve kterých testech a otázkách udělal student chybu a jaká byla úspěšnost tříd a otázek. Sebereflexe pedagoga nemusí být pouze v časové rovině jednoho roku, ale i několika let, jelikož v programu se archivují také výsledky z předchozích let (k vymazání výsledků dochází jediné tehdy, když učitel žáka vymaže ze seznamu).

Popis programu SLMS Class

Uvedený program obsahuje pět částí. Pedagog – lektor má přístup do všech sekcí programu. Žák má k dispozici pouze sekce I., IV. a V.

Menu	Aplikace
I. „Mé testy“	K dispozici Rozpracované Absolvované Historie absolvovaných testů
<i>II. Uživatelé</i>	
III. Testy	Administrace testů Výsledky testů Výsledky testů ve třídách Úspěšnost otázek testů Historie absolvovaných testů Vyřazené testy
IV. Nastavení	Změna hesla Změna osobních údajů
V. Odhlásit	Odhlásit O aplikaci Historie SLMS Class

Struktura je řešena tak, aby byl program přehledný a jasný jak pro pedagoga, tak i pro zkušného žáka.

SLMS Class v praxi

Testovací verze programu byla vyzkoušena v časovém rozmezí červen 2004 až červen 2005 v hodinách chemie a biologie, resp. přírodopisu. Kromě přímého využití v diagnostické fázi výchovně vzdělávacího procesu sloužil program také při domácí přípravě na vyučování. Popis jednotlivých typů testů:

- 1) „Otázky – odpovědi“ – klasické formy testu s možností výběru z nabízených variant, výhodou tohoto testu je vytvoření databáze otázek a náhodný výběr při jejich zadání.
- 2) „Doplňování textu“ – tento typ testu je založen na textu, ve kterém jsou určité proměnné, z nichž si může zkušný vybírat, test je vhodný nejen při doplňování

slov, popř. částí vět, ale také při doplňování koeficientů v chemických rovnicích.

- 3) „Cvičení na souboru“ – tato forma je již určena spíše pro distanční vzdělávání než pro prezenční výuku. Žák si uloží do svého počítače soubor, který mu byl přidělen a po zpracování materiálu jej zpětně odešle učiteli, který jej ohodnotí. Výhodou je samostatný písemný projev žáka. Tato forma je vhodná pro samostatnou práci spojenou s vyhledáváním informací – např. informace ohledně prvků v periodické soustavě nebo o významných vědcích. Odpovědi mohou být variabilní, stejně jako hodnocení testu⁴.

Zkoušený žák se po zadání přihlašovacího jména a hesla dostane do vlastní části aplikace, kde si může prohlédnout testy, které již absolvoval, které má rozpracované, nebo které má zadané. Po kliknutí myši na zadané testy se mu rozbolí nové okno, ve kterém je již daná forma testu s otázkami, její vyplňování záleží na typu testu. Buď jde o rozbalovací okna a výběr z možností, nebo o zaškrtnutí polí u jednotlivých odpovědí. Po ukončení práce klikne zkušný na tlačítko „vyhodnotit test“, okno s testem se uzavře, tím práce končí. Pokud je vyučující přihlášen na jiném počítači, může aktivovat již předem definované hodnocení a studentovi se objeví známka a procentuální vyhodnocení jeho odpovědí. Učující může také zpřístupnit výsledky studenta, který si tímto způsobem může provést sebereflexi svých znalostí. U testu „Cvičení na souboru“ probíhá testování jiným způsobem, student si uloží do počítače soubor, který vypracuje a následně odešle vyučujícímu k ohodnocení. Tento typ testování je subjektivnější, jelikož vyučující může hodnotit dle vlastního uvážení a ne dle předem definované stupnice, výhoda však spočívá v možnosti slovního hodnocení a vyjádření připomínek.

Výhody SLMS Class ze strany učitele

Hlavní výhody⁹, které jsme zhodnotili po jednoleté práci s tímto programem, byly:

- a) dle tvorby jednotlivých otázek:
 - usnadnění práce učitele (zejména ve smyslu vyhodnocování testů, které provádí program na základě požadavků učitele),
 - tvorba vlastních úloh do testů (testy jsou „šité na míru“ specificky pro danou třídu resp. žáka).
- b) dle osvojování učiva a kontroly osvojeného učiva:
 - možnost individuální kontroly učiva ze strany žáka (žák může pracovat vlastním tempem a sebereflektovat nabyté vědomosti),
 - snadná kontrola vědomostí a dovedností žáků (učitel si v programu může nechat ukázat, ve kterých úlohách žáci chybují nebo které jsou bezproblémové, jde o sebereflexi i ze strany učitele).
- c) vyhodnocení celého testu a jednotlivých úloh:
 - objektivnost při vyhodnocování výsledků testu (program je korektní a nezaují),
 - jednoduché ovládání programu.

Nevýhody SLMS Class ze strany učitele

Některé nevýhody⁹ programu, které jsme během jeho používání objevili, byly odstraněny po dohodě se společností SANIT. Některé však odstranit nelze.

Patří mezi ně:

- nevýhoda přístupu k programu z webové adresy – může docházet k výpadku serveru ať již ze strany správce webu nebo uživatele,
- při vkládání obrázků do textu úloh může docházet k nekompatibilitě počítače pedagoga a uživatele (žáka), a tudíž k absenci obrázků (např. chemických vzorců vytvářených v jiných aplikacích) v zadání úlohy, které má žák k dispozici,
- posledním, a dalo by se říci nejpodstatnějším nedostatkem, je, že program nikdy nemůže plně nahradit roli učitele ve výuce, jelikož nemůže reagovat na aktuální situaci ve třídě.

Využití SLMS Class žáky a studenty

Testování programu SLMS Class se zúčastnilo 141 žáků a studentů ve věku 13–17 let ze ZŠ Šilheřovice a Maticního gymnázia v Ostravě. Těm byl dán po ročním používání programu SLMS Class ve výuce i mimo ni dotazník, který obsahoval celkem pět otázek. První tři otázky byly uzavřené (výběr z možností), čtvrtá a pátá otázka měla volnou odpověď.

Které z těchto variant ověřující Tvé znalosti jsou pro Tebe výhodné?

Dotazovaným byly nabídnuty tři možnosti:

- ústní zkoušení,
- zkoušení pomocí počítače,
- písemné zkoušení.

Při procentuálním vyhodnocení bylo zjištěno, že nejvíce dotazovaných by uvítalo zkoušení pomocí počítače (42 %), písemné zkoušení preferuje 27 % a ústní 31 % respondentů.

Zdál se Ti program složitý?

Pouhé 1 % dotazovaných zvolilo variantu, že je pro ně program nezávládnutelný. Další 2 % považuje program za složitý i s pomocí učitele a 19 % za zvládnutelný s pomocí učitele. Zbytek dotazovaných považuje program za jednoduchý a jeho ovládnutí za snadné, z čehož lze usuzovat na vysokou počítačovou gramotnost žáků a studentů a jejich velmi dobrou orientaci ve webovém prostředí.

Byl jsi spokojen s programem? (míra spokojenosti s programem)

Pro 42 % respondentů byl program vyhovující, pro 39 % plně vyhovující, pro 17 % částečně vyhovující a pouze pro 2 % nevyhovující.

Poslední dvě otázky byly zaměřeny na klady (otázka 4) a záporny (otázka 5) programu ze strany dotazovaných.

V obou případech byla možnost volných odpovědí.

Žáci ohodnotili jako kladné zejména testový typ odpovědi, rychlost práce i vyhodnocení výsledků, přehlednost testů a v neposlední řadě i menší stres při zkoušení (oproti ústnímu zkoušení, kde se mohli žáci ztrapnit). Z negativ programu lze zmínit, že program neumožňuje vlastní odpověď, ale odpověď striktně stanovenou a její výběr, někteří žáci uvažují o negativním dopadu výpočetní techniky na zdraví člověka (poškození zraku nebo úraz elektrickým proudem), negativně také byla hodnocena nemožnost opisování, jelikož program automaticky generuje různé uspořádání nebo zadání otázek.

Závěr

SLMS Class lze využít ve výuce chemie zejména proto, že žáci a studenti mají velmi pozitivní vztah k informačním a komunikačním technologiím. ICT berou jako zpestření výuky, kdy učitel již nezastává svou tradiční roli, ale stává se tutorem výuky¹⁰. Program je vhodný jak pro prezenční výuku (zejména pro fixační a diagnostickou fázi výchovně-vzdělávacího procesu), tak i pro distanční výuku (zpracovávání materiálů zaslaných učitelem). Program SLMS Class lze v chemii využít i při vyčíslování rovnic nebo zadávání samostatných prací s vybranou tematikou (např. historie chemie, průmyslové využití surovin). Z výsledků dotazníku vyplývá, že žáci a studenti by větší využití ICT ve výuce uvítali. Významná část, 42 % respondentů, by souhlasila se zkoušením pomocí počítače a tento program je pro ni vyhovující. Z nalezených kladů byly nejvýznamnější okamžité vyhodnocení a méně stresu při práci oproti ústnímu zkoušení. Ze záporů se objevovaly odpovědi o špatném vlivu počítačů na lidský organismus (poškození zraku, úraz elektrickým proudem), ale také striktní hodnocení znalostí.

Program samozřejmě nedokáže nahradit ve výuce učitele, jelikož nedokáže reagovat na aktuální situaci, ale lze jej využít jako doplněk výuky a pro ověření pochopení učební látky žákem¹¹, v případě technologií LMS zejména v oblasti fixační a diagnostické.

LITERATURA

1. Bílek M.: Chem. Listy 91, 1074 (1997).
2. Brestenská B.: Aktuálne problémy vyučovania chémie. 1998, 190-194.
3. Kapounová J., Kostolányová K.: *Konference „ICTE 2001“*, Rožnov p.R., 18.-21.9.2001. Sborník, str. 244-248.
4. Drozdová M.: *Konference „ICTE 2001“*, Rožnov p.R., 18.-21.9.2001. Sborník, str. 116-120.
5. Fojtík R.: *Konference „ICTE 2001“*, Rožnov p.R., 18.-21.9.2001. Sborník, str. 64-67.
6. Mareš J.: *Konference „ICTE 2004“*, Rožnov p.R., 31.8.-2.9.2004. Sborník, str. 31-45.
7. MSANIT. úvodní stránka firmy [cit.2006-01-25]. URL: <http://www.msanit.cz>, staženo dne 20.1.2006.

8. Malčík M.: *Konference „ICTE 2001“*, Rožnov p.R., 18.-21.9.2001. *Sborník*, str. 3.
9. Vrkočová M.: nepublikované výsledky
10. Polášek, R.: *Konference „Počítač ve škole 2006“*, Nové Město na Moravě, 11.-13.4.2006. *Sborník*, str. 33.
11. Úvod do online výuky [online]. 2004 [cit. 2006-03-07]. Dostupný z WWW: http://elearning.cesnet.cz/pages/teorie_uvod.html?a=0, staženo dne 20.1.2006.

J. Veřmiřovský^a and M. Vrkočová^b (^a *Foundation Grammar School, Ostrava*, ^b *Primary School, Šilheřovice*):
Software SLMS Class for e-Learning Application in Chemistry at Primary and Secondary Schools

The article deals with the use of SLMS Class software in the assessment of teaching chemistry. The chemistry knowledge of 141 students of primary and secondary schools was evaluated. After the assessment a questionnaire was distributed on the affinity of students to information and communications technology and their satisfaction with the software. The results were favourable in both cases.

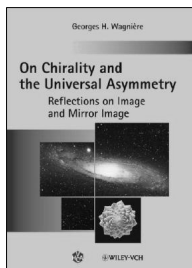
**Fakulta chemické technologie VŠCHT Praha
ve spolupráci se studentskou organizací IAESTE**

pořádá setkání zástupců firem se studenty pod názvem KONTAKT 2008.

Datum: 26.3.2008, 10–13 hodin

Místo: Respirium, budova B, Technická 3, Praha 6

RECENZE



Georges H. Wagnière

On Chirality and the Universal Asymmetry: Reflections on Image and Mirror Image

John Wiley a Verlag Helvetica Chimica Acta, Zurich, 2007,

měkká vazba, 256 stran, cena €82.50.

ISBN: 978-3-90639-038-3

Georges H. Wagnière se narodil v Bernu v roce 1933. Studoval na Federal Institute of Technology v Zurichu a Harvard University v USA. Od roku 1965 pracoval jako učitel na University of Zurich. V letech 1996–2000 byl prezidentem rady expertů švýcarského národního programu o nanovědách. I jako důchodce se věnuje vědě a k jeho zájmům patří elektronické a optické vlastnosti velkých molekul, přírodní optická aktivita, magneto-optika, magnetochiralita a nelineární optika. Publikoval dvě knihy *Introduction to Elementary Molecular Orbital Theory and to Semiempirical Methods* (1976) a *Linear and Nonlinear Optical Properties of Molecules* (1993).

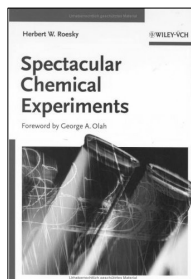
Nová kniha nás zavede do světa chiraloty, od Alenky v říši za zrcadlem, přes vesmír až po molekuly, nanočástice a přemýšlení o podstatě života.

Ještě před půl stoletím nikdo netušil, že svět není symetrický. Objev narušení parity (u slabých interakcí) v roce 1956 byl naprostou senzací, neboť bylo možno vyvodit, že vesmír je chirální a fundamentálně asymetrický, přičemž nejkrásnější příklady chiraloty nalézáme v živé přírodě, kde například bílkoviny se skládají téměř výlučně z L-aminokyselin a nukleové kyseliny a sacharidy jsou opět téměř výlučně z D-řady. Autor cituje Junga, který uvedl, že Bůh má sklon k tomu být levák. Zamýšlí se nad možnostmi ent-přírody, původu a účelu stereoselektivity. Kniha přináší celou řadu známých i neobvyklých příkladů chiraloty, ale nechce a ani nemůže přinést odpovědi na tíživé filosofické otázky. Provádí nás přírodou a okolním světem a chiralitu popisuje a uvádí ať již v laboratoři, vesmíru, na Zemi a jako součást živé přírody.

Čtení to není těžké a i neoborník nalezne v knížce zajímavé informace a úvahy. Matematické vzorce a grafy slouží jako (pro některé čtenáře) okrajová informace. Příjemné je, že autor uvádí na konci glosář, ve kterém vysvětluje vědecké termíny prostými slovy i zvědavému neoborníkovi. Od běžné vědecké beletrie ji odlišuje bohatý citační materiál na zdroje informací a úvah. Vážnou závadou je, že kniha neznázorňuje stereogenní centra molekul podle požadavků IUPAC.

Knižka je poutavým a místy i zábavným čtením na řadu nedělních odpolední.

Pavel Drašar



H. W. Roesky

Spectacular Chemical Experiments

Wiley-VCH, 2007, 226 stran, pevná vazba, cena 29.90 Euro.

ISBN-13: 978-3-527-31865-0

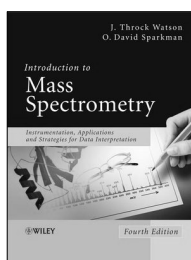
Autor známých knih (*Chemische Kabinettstücke*, *Chemical Curiosities*) a spoluautor díla *What's Cooking in Chemistry?*

How Leading Chemists Succeed in the Kitchen napsal tentokrát knížku, s předmluvou od G. A. Olaha, kde popisuje přes 80 zábavných, impozantních a někdy téměř neuvěřitelných chemických pokusů pro školy, university či domácí pobavení. Všechny pokusy jsou podrobně popsány a byly několikrát přezkoušeny, čímž je zaručena kvalitní reprodukovatelnost.

Kniha je rozdělena do několika kapitol: voda, modrá barva, červená barva, koloidy, sóly a gely, samoskladba, různé, umělecké galerie chemie. Poslední kapitolou je pak filozofující závěr. Pokus je typicky popsán schématem: zařízení, chemikálie, bezpečnostní aspekt, popis pokusu, výklad, jak naložit s odpadem, literatura. Každý pokus je uveden citátem. Všechna témata jsou perfektním experimentální materiálem a případně i náplní pro žákovský projekt. Kvalitní obrazy a fotografie činí dobře napsanou knížku ještě zajímavější, než by se mohlo zdát, pro každého, kdo se chce poučit či pobavit.

Knižka končí klasickým citátem, radou krále králíčkovi: „*Begin at the beginning, and continue up to the end, then stop*“. Prostě radost, protože tak to má být a tak to i v knížce je!

Pavel Drašar

J. Throck Watson,
O. David Sparkman

Introduction to Mass Spectrometry: Instrumentation, Applications, and Strategies for Data Interpretation

4. vydání, John Wiley & Sons, Ltd., 2007, pevná vazba, 862 stran, cena €97.50.

ISBN: 978-0-470-51634-8

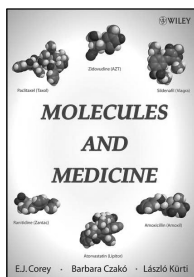
Kompletně přepracovaná základní příručka reprezentuje snadno čitelného průvodce všemi úskalími hmotové

spektrometrie a demonstuje její možnosti použití, ale i omezení. Autoři jsou mezinárodně uznávanými experty, kteří použili praktické příklady z reálného světa pro demonstraci možnosti kvalitativní i kvantitativní analýzy a obecně použití MS. Na rozdíl od řady jiných knih o MS přináší tato „vyčerpávající“ popis zařízení pro tuto významnou analytickou metodu od vývěv přes ionizátory k analyzátorům a doplňuje názory autorů na interpretaci různých dat. Kniha je vybavena rozsáhlým citačním aparátem, který přesahuje 3000 odkazů. Kniha pokrývá téměř vše o MS od fyzikálních základů až po soudobý vývoj v oblasti a je významným pomocníkem pro výzkumníky v mnoha oblastech lidské činnosti včetně analýz farmaceutických, životního prostředí, biomedicínských, sumou, pro všechny, kdo používají MS.

Z hlavních témat je možno citovat: Co je MS?, Historie, Použití MS, Data získaná MS a jejich interpretace, Definice pojmů, Popis přístrojů pro MS, Popis vakuových čerpadel a měřidel, MS/MS, Sprážené techniky GC/MS, LC/MS, CE/MS, Nečistoty ve spektrech, Knihovny a databáze dat, Software, Reakce při MS, Chování typických skupin sloučenin v MS, MALDI, Práce se vzorkem, Typické aplikace: Peptidy a proteiny, Mikroby, Biomarkery, Polymery, Malé molekuly, Hodnocení kvantity, Sekvenování, Proteomika, Oligonukleotidy, Cukry. Příručka je vybavena mnoha tabulkami, literárním přehledem a kvalitním rejstříkem.

Kniha je cenným pomocníkem každého, kdo se setkává s touto mocnou metodou, ať již v chemii, biologii, fyzice, materiálové vědě či jinde.

Pavel Drašar



E. J. Corey, B. Czako,
L. Kurti

Molecules and Medicine

Wiley John & Sons, Inc., 2007,
286 stran, měkká vazba, cena € 50.
ISBN-13: 9780470227497

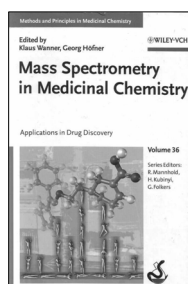
Molekuly a medicína přináší, pravděpodobně vůbec poprvé integrovaný pohled na molekulární medicínu, a to z pohledů chemie, biologie, výzkumu nových léčiv a medicíny. Velmi pěkně graficky vybavená knížka (nepřehlížím fakt, že si autoři někdy pletou grafické znázornění chiralit stereogenního centra s 3D prostorovým znázorněním molekuly !!!) přináší základní informace i objevech, použití a způsobu účinku více než 100 nejvýznamnějších lékových substancí používaných v moderní medicíně.

S důrazem na nejpoužívanější a nejvýznamnější léky jako protisrážlivé látky, antibiotika, Viagru, antimalarika a antidepresanty, knížka přináší informace podmínky léčeni, průmyslové aplikaci, doby, od kdy se používají, biologický cíl léku, lidské proteiny související s chorobou, metabolismem či účinkem a o vedlejších účincích a příbuz-

ných léčivech. Grafické znázornění struktur vztahujících se k danému léku vhodně doplňují text. Pokud je to vhodné, uvádí i obecné informace jako např. o imunologii, čímž umožní i nelékaři porozumět daným informacím. Úvod knihy naopak seznamuje nechemiky ze „zázrakem molekulárního světa“. Kvalitní glosář a rejstřík doplňují vynikající příručka a učebnici. Důležité je i to, že každá kapitola je opatřena citacemi na souvztažnou literaturou.

Knížka je určena širokému čtenářstvu od začínajících studentů po profesory v oblasti věd o živé přírodě, chemii, medicíně a farmacii.

Pavel Drašar



Klaus T. Wanner, Georg
Ch. Höfner:

Hmotnostní spektrometrie v medicíně

Vydal Wiley-VCH, Weinheim 2007.
První vydání, 437 stran.
ISBN 978-3-527-31456-0

V moderní medicíně zaujímá odvětví lékového screeningu jedno z výhradních postavení. V posledních letech se metody vyhledávání nových léčiv značně změnilly, a to hlavně s ohledem na vývoj a rozmach nových instrumentálních metod přinášejících zcela zásadní informace o interakci potenciálního léčiva s cílovou strukturou organismu. Současný lékový screening tak využívá nejen klasické metody strukturní analýzy pro identifikaci nových látek, ale v reakci na požadavky moderních metod vyhledávání nových léčiv, vyžaduje analytické metody schopné detegovat látky ve velmi nízkých koncentracích, přítomné ve složitých komplexních maticích, které mohou obsahovat stovky až tisíce dalších látek. V analytickou metodu, která je schopná uvedené požadavky naplnit, se v posledních dvou desetiletích vyvinula hmotnostní spektrometrie. Vývoj nových ionizačních technik (elektrosprayová ionizace – ESI, chemická ionizace za atmosférického tlaku – APCI, případně maticí asistovaná laserová desorpční ionizace – MALDI, ad.), snížení detekčního limitu, miniaturizace, rozvinutí spojení hmotnostních spektrometrů s řadou separačních technik (HPLC, GC, ad.) byly hlavními impulsy pro široké propojení obou oborů a začátkem vývoje aplikací hmotnostní spektrometrie do oblastí výzkumu nových léčiv pro tuto analytickou techniku „netradičních“ (zcela nových). O významnosti objevů v hmotnostní spektrometrii svědčí udělení Nobelovy ceny za chemii v roce 2002 profesoru J. B. Fennovi z Virginia Commonwealth University a Koichi Tanakovi z Shimadzu Corp. za vývoj výše uvedených ionizačních technik.

Záměrem autorů publikace „Hmotnostní spektrometrie v medicíně“ je předložit přehled možností uplatnění současné hmotnostní spektrometrie v medicíně

nální chemii, přičemž zvláštní důraz je kladen právě na screening nízkomolekulárních léčiv, především pak na etapu hodnocení jejich interakce s makromolekulárními systémy organismu. Publikace prezentuje v třinácti logicky řazených kapitolách hmotnostní spektrometrii v několika oblastech výzkumu nových léčiv, přičemž hlavní pozornost je věnována oblasti detekce a analýze interakce cílová struktura–léčivo (typicky interakci ligand–protein). Hlavním tématem publikace je prezentace této poměrně nové aplikace hmotnostní spektrometrie, jejímž základem je objev a vývoj nových desorpčně-ionizačních technik pro vysokomolekulární, netěkavé molekuly, jako jsou např. proteiny, případně RNA, DNA fragmenty. Hmotnostní spektrometrie nabízí celou řadu přístupů pro studium interakce vazebné místo–léčivo, přičemž úhel pohledu (cíl studia) může zahrnovat vazující se ligand, tj. konkrétní strukturu generovanou metodami kombinatoriální chemie, strukturu vazebného místa, případně identifikaci celého afinitního páru (farmakum–receptorový komplex).

Knižní publikace „Hmotnostní spektrometrie v medicíně“ je koncepčně sestavena tak, že není určena pouze pro úzkou skupinu odborníků pracujících v této oblasti, ale poskytuje pohled na uvedenou oblast mnohem širšímu okruhu čtenářů, a to i těm, kteří nejsou s technikami současně hmotnostní spektrometrie detailně seznámeni. Těmto čtenářům nabízí publikace poměrně obsáhlou kapitolu, která je věnována základům hmotnostní spektrometrie tj. principům, metodám a instrumentálním technikám, stejně jako praktickým aspektům a aplikacím

v oblasti bioanalýzy, přičemž odkazuje na téměř stovku primárních zdrojů, které lze považovat v uvedeném odvětví za zcela zásadní. Další kapitoly jsou již věnovány hlavnímu tématu, přičemž jsou prezentovány různé přístupy afinitních studií tj. identifikace molekul připravených metodami kombinatoriální chemie vázajících se na cílovou strukturu metodami hmotnostní spektrometrie, přístupem metaforicky nazývaným hledáním jehly v kupce sena. Editoři publikace si však nekladli za cíl podat kompletní přehled metod používaných v této oblasti, ale snažili se poskytnout náhled do různých strategií a přístupů k dosažení cíle, jímž je získání validní informace o interakci vazebné místo–vazující se molekula. Závěrečná kapitola je pak věnována novým přístupům v oblasti farmakokinetických studií, kdy současné metody hmotnostní spektrometrie umožňují již v raných stádiích výzkumu nových léčiv posoudit rizika spojená s jejich farmakokinetickým chováním (adsorpce, metabolismus, distribuce, exkrece), která by ve stádiu klinického testování mohla vést k zastavení vývoje nového léčiva.

Editoři publikace K. T. Wanner a G. Ch. Höfner v současné době působí na Ludwig-Maximilian Universität v Mnichově a pro sepsání publikace „Hmotnostní spektrometrie v medicíně“ oslovili více než tři desítky odborníků působících v uvedené oblasti jak z universitních pracovišť, tak farmaceutických společností.

Prezentovanou publikaci je možné doporučit všem zájemcům o problematiku vyhledávání nových léčiv a hmotnostní spektrometrie.

Petr Kačer

ZPRÁVY

Pražské analytické centrum inovací <http://www.gacr.cz/PACI>



Laboratoř na čipu

Snaha o zrychlení a zlevnění analýz a zvýšení jejich citlivosti a selektivity vede mimo jiné i ke zmenšování měřítka prováděných operací. Jedním z výsledků tohoto procesu interakce analytické chemie s moderní technologií, elektronikou, mikrofluidikou a dalšími obory je i koncept tzv. laboratoře na čipu. Moderní techniky miniaturizace umožňují na jediný čip o ploše řádově cm^2 umístit např. všechna pomocná zařízení, kolony či kapiláry pro separaci, detekční zařízení atp., což vede k miniaturizaci celého analytického systému, jeho snadné přenositelnosti, snížení jeho ceny a v neposlední řadě i k výraznému snížení spotřeby drahých chemikálií a rozpouštědel. Vzhledem k neustále rostoucímu významu tohoto přístupu v moderní analytické chemii uspořádalo Pražské analytické centrum inovací dvoudenní kurs věnovaný této problematice. Tento kurs proběhl ve dnech 25. a 26. září 2007 ve studijním a informačním centru České zemědělské univerzity v Praze-Suchbale a byl zaměřen na využití mikrofluidiky v chemické analýze, vývoj a využití miniaturizovaných integrovaných separačních zařízení a jejich kombinací s různými detekčními zařízeními (např. s hmotnostním spektrometrem, snadno miniaturizovatelnými elektrochemickými detektory, atp.). Po úvodní přednášce Dr. Mucka (Max-Planck-Institut für Chemische Ekologie, Jena) věnované vývoji a využití miniaturizovaných integrovaných separačních zařízení v MS-proteomice a elektrochemii následovala přednáška Dr. Tůmy (1. LF UK Praha) zamě-

řená na analýzu aminokyselin na polymerním mikročipu s bezkontaktní vodivostní detekcí. První den programu byl zakončen přednáškami o stanovení nitrofenolů pomocí kapilární zonové elektroforézy s amperometrickou detekcí (Dr. Fischer, PřF UK Praha) a o využití diamantových mini- a mikroelektrod v miniaturizovaných analytických zařízeních (prof. Berek, PřF UK Praha). Druhý den zahájila přednáška Dr. Coufala (PřF UK Praha) věnovaná obecné problematice miniaturizace v separačních metodách a přednáška Tom van de Goora (Agilent Technologies, Waldbronn, Německo) nazvaná HPLC-chip-MS: Ultimate sensitivity and ease of use for a wide range of applications. Program byl uzavřen přednáškou Dr. Foreta (Ústav analytické chemie AV ČR Brno) věnované problematice mikrofluidiky a nanotechnologie v chemické analýze a závěrečnou diskusí. Kurs se setkal s příznivou odezvou u většiny účastníků, na jejichž žádost bylo připraveno CD s powerpointovými prezentacemi přednesených příspěvků.

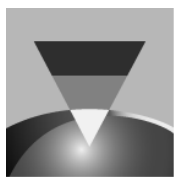
Další informace o rozsáhlé činnosti Pražského analytického centra inovací lze nalézt na <http://www.gacr.cz/PACI>.

Jiří Berek

*Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta,
Katedra analytické chemie, Albertov 2030,
128 40 Praha 2
Tel: 221 951 224, E-mail: Berek@natur.cuni.cz*



Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a Státním rozpočtem České republiky



analytica2008

01.–04. APRIL, NEUE MESSE MÜNCHEN

21. INTERNATIONALE FACHMESSE FÜR INSTRUMENTELLE ANALYTIK,
LABORTECHNIK UND BIOTECHNOLOGIE MIT analytica Conference

EVROPSKÝ VELETRH ANALYTICA 2008 HLÁŠÍ VYSOKOU POPTÁVKU PO VÝSTAVNÍ PLOŠE

Veletrhu se zúčastní přes 1.000 vystavovatelů z 35 zemí, několik společných národních expozic vč. České republiky, vysoký počet vystavovatelů z Evropy včetně všech lídrů na trhu analytické a laboratorní techniky a biotechnologií.

21. Mezinárodní odborný veletrh instrumentální analytiky, laboratorní techniky a biotechnologií se bude konat na výstavišti v Mnichově ve dnech 1. až 4. dubna 2008. Mezi novými vystavovateli jsou takové renomované značky jako Schweizer Chemie- und Life Sciences-Forschungsunternehmen Solvias, výrobce speciálních chemikálií Honeywell Speciality Materials nebo Laborglas-Spezialisten Duran Group. Opětovně je na veletrhu zastoupena firma vyrábějící laboratorní zařízení Waldner Gruppe nebo výrobce měřicích přístrojů Hanna Instruments. Návštěvníci uvidí na výstavní ploše přesahující 50 000 m² kompletní nabídku z oboru analytiky a kontroly kvality, jako i laboratorní techniky a biotechnologií.

Stoupající poptávka po výstavní ploše ze strany zahraničních vystavovatelů

Veletrh zaznamenává rekordní účast národních společných expozic ze zahraničí: Velká Británie a Španělsko budou zastoupeny dvěma národními expozicemi, USA budou mít dokonce tři společné expozice. Nově oznámil účast stát State of Pennsylvania. Nadto se budou prezentovat společnými expozicemi Finsko, Čína, Indie a také Česká republika.

Česká účast na veletrhu

Letos se Česká republika bude prezentovat rekordní účastí. Kromě tradičních vystavovatelů jako DataApex, Ecom či Analytika Praha na veletrhu organizuje společnou expozici také Czech Trade a Biotechnologický cluster. Celkem se veletrhu z ČR zúčastní 14 českých vystavovatelů na ploše 150 m². Další rostoucí počet vystavovatelů hlásí Itálie, Francie a Švýcarsko. Z Francie přijede 17 vystavovatelů, ze Švýcarska 30 atd.

Setkání výrobců laboratorní techniky

S ohledem na stav přihlášených se v tomto oboru budou prezentovat např. tyto značky: Akzo Nobel, Analytik Jena, Bruker, Carl Zeiss, Deutsche Metrohm, Eppendorf, Hamamatsu, Horiba, JAS; Leica, Mettler Toledo, Olympus, Perkin Elmer, Shimadzu, Thermo Electron, Varian, VWR, Waters nebo WTW – pouze abychom jmenovali některé. Obor biotechnologií, Life Sciences a diagnostiky v pavilonu A3 očekává takové renomované firmy jako Beckman Coulter, Becton Dickinson, Bio-Rad, Biozym Scientific, Boehringer Ingelheim, Euroimmun, Fermentas, GE Healthcare, Greiner Bio-One, Merck, Roche Diagnostics und Syngene. Podobně v hale s biotechnologiemi vystavují inovativní biotech-podniky ať už ve společné expozici Bayern Innovativ, Technická universita Dresden „biosaxony“ nebo BioCentiv z Jeny či expozice biotechnologických parků Luckenwalde.

Veletrh **analytica 2008** představí nejen nejnovější informace z oboru biotechnologií, ale poskytne také impulsy pro pokrok a inovace na trhu Life Sciences.

Bližší informace pro návštěvníky z ČR a SR naleznete na www.expos.cz, kde lze online objednat zlevněné vstupenky, zájezdy či individuální ubytování.



ÚOCHB AV ČR

March 27, 2008

Invited Lecture Series

Topic: Nucleoside Mimics

Mimicking the Structure and Function of DNA

The design, synthesis, and properties of three classes of nucleoside mimics in which the DNA bases are replaced by unnatural aromatic groups will be describe. They are studied both as components of DNA, and as nucleotide monomers. Surprisingly, some of these analogs retain full biochemical and cellular function, despite their large differences from the natural compounds.

Speaker: Professor Eric T. Kool

Department of Chemistry, Stanford University,
Stanford, California, USA

ÚOCHB AV ČR

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v. v. i.
Flemingovo nám. 2, Praha 6

Lecture Hall 10:00 am



Invited Lecture Series

Topic: Alkaloid Synthesis

Cascade Reactions for Alkaloid Synthesis

Sequential transformations enable the facile synthesis of complex natural products from simple building blocks in a single preparative step. Their value is amplified if they also create multiple stereogenic centers. Our research program at Emory has focused on using new cascade reactions of push-pull dipoles and amidofurans for alkaloid synthesis. Our interest in using these domino sequences originated from some earlier work centered on the Rh(II)-catalyzed cyclization/cycloaddition cascade of α -diazoimides containing tethered π -bonds. Making use of these cascade reactions, we have been able to rapidly assemble several alkaloidal systems in excellent yield.

Speaker: Professor Albert Padwa

Department of Chemistry, Emory University,
Atlanta, Georgia, USA

ÚOCHB AV ČR

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v. v. i.
Flemingovo nám. 2, Praha 6

Lecture Hall 10:00 am



Česká společnost chemická · Univerzita Palackého
Statutární město Olomouc · SIGMA-ALDRICH – hlavní sponzor



SIGMA-ALDRICH

60. JUBILEJNÍ SJEZD ASOCIACÍ ČESKÝCH A SLOVENSKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ

Olomouc 1. – 4. září 2008

Odborné sekce:

- Anorganická chemie (včetně bioanorganické); Garant: Tomáš Wágner; Sponzor sekce **MERCI**
- Organická chemie (včetně bioorganické a farmaceutické); Garant: Jan Hlaváč; Sponzor sekce **FARMAK**
- Analytická chemie (včetně bioanalytické); Garantka: Eva Tesařová; Sponzor sekce **SHIMADZU**
- Přírodní látky (fytoceutika, biologická aktivita, fytofarmaka); Garant: Vladimír Křen; Sponzor sekce **TEVA**
- Chemické vzdělávání, historie a popularizace chemie; Garanti: Hana Čtrnáctová, Juraj Ševčík; Sponzor sekce **UNIVERZITA PALACKÉHO** ve spolupráci s projektem MedVěd
- Průmyslová chemie (ChemProgres); Garant: Jiří Hanika; Sponzor sekce **SPOLCHEMIE**
- Teoretická a fyzikální chemie; Garant: Jaroslav Koča; Sponzor sekce **THERMOFISCHER** (dříve SPECTRONEX)
- Potravinářská chemie (včetně funkčních potravin, nutraceutik a doplňků stravy); Garant: Vladimír Filip; Sponzor sekce **MERCK**

Program:

Pondělí 1. 9. 2008 (Moravské divadlo)

Slavnostní zahájení

J.-M. Lehn: *From Supramolecular Chemistry to Constitutional Dynamic Chemistry*

Večer na uvítanou

Úterý 2. 9. (Regionální centrum Olomouc)

Irena Valterová: *Biosyntéza hmyzích feromonů*

Eubor Fišera: *1,3-Dipolárne cykloadície chirálnych nitrónov a ich využitie v syntéze*

Přednášky v sekcích, minisymposia

Plakátová sdělení (Umělecké centrum Univerzity Palackého)

Výstava firem (Umělecké centrum Univerzity Palackého)

Setkání u moravských vín

Středa 3. 9. (Regionální centrum Olomouc)

Miloslav Frumar: *Rychlé reversibilní změny amorfní – krystalická fáze a nové materiály pro optické a elektrické paměti vysoké hustoty*

Karel Lemr: *Hmotnostní spektrometrie – od elektrického výboje k zobrazování tkání*

Přednášky v sekcích, minisymposia

Vyhlášení vítězů plakátových sdělení a společenský večer

Čtvrtek 4. 9.

Exkurze, výlety (www.ckpressburg.cz)

www.sjezd2008.upol.cz

OBSAH		CONTENTS	
ÚVODNÍK	101	EDITORIAL	101
REFERÁTY		REVIEW ARTICLES	
Je náhrada ETBE za MTBE výhrou?	102	Possible Benefits of Replacing MTBE with ETBE	102
M. Vošahlíková, K. Demnerová a J. Pazlarová		M. Vošahlíková, K. Demnerová, and J. Pazlarová	
Bioetanol: Súčasný trendy vo výskume a v praxi	108	Bioethanol: Current Trends in Research and Practice	108
M. Šulák a D. Šmogrovičová		M. Šulák and D. Šmogrovičová	
Slunečnice roční (<i>Helianthus annuus</i> L.) – obsahové látky a biologická aktivita	116	Sunflower – Substances and Their Biological Activity	116
Z. Řeháková, J. Karličková a L. Jahodář		Z. Řeháková, J. Karličková, and L. Jahodář	
Vývoj novej generácie environmentálnych adsorbentov a biokompozitov na báze prírodných nanomateriálov	124	Development of New Generation of Environmental Adsorbents Based on Natural Nanomaterials	124
E. Chmielewská		E. Chmielewská	
Těžké kovy v čistírenském kalu a jejich chování při spalování	131	Heavy Metals in Sewage Sludge and Their Behaviour in Incineration	131
M. Hartman a O. Trnka		M. Hartman and O. Trnka	
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY		LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS	
Automatizovaný systém kontinuálního sledování aerobního biologického rozkladu látek ve vodním i půdním prostředí	139	Fully Automated System of Continual Testing of Aerobic Biodegradability in Aqueous or Soil Environment	139
P. Dřímál a J. Hoffmann		P. Dřímál and J. Hoffmann	
GC-MS analýzy přírodních banánových aróm	148	GC-MS Analysis of Natural Banana Flavours	148
L. Gremeň, P. Moravčíková a P. Fodran		L. Gremeň, P. Moravčíková, and P. Fodran	
VÝUKA CHEMIE		EDUCATION IN CHEMISTRY	
E-Learningový program SLMS CLASS a jeho využití ve výuce chemie na základních a středních školách	152	Software SLMS Class for e-Learning Application in Chemistry at Primary and Secondary Schools	152
J. Veřmiřovský a M. Vrkočová		J. Veřmiřovský and M. Vrkočová	
RECENZE	156	BOOK REVIEWS	156
ZPRÁVY	159	NEWS	159

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 102 (2008), čís./no. 2 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 132, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 118 • ISSN 0009-2770, ISSN 1213-7103 (e-verze) • evidenční číslo MK ČR E 321 • Vydává Česká společnost chemická jako časopis Asociace českých chemických společností ve spolupráci s VŠCHT Praha, s ČSPCH a ÚOCHB AV ČR za finanční podpory Nadace Český literární fond a kolektivních členů ČSCH • IČO 444715 • Published by the Czech Chemical Society • VEDOUcí REDAKTOR/EDITOR-IN-CHIEF: B. Kratochvíl • REDAKTORŮ/ EDITORS: J. Barek, Z. Bělohav, P. Drašar, J. Heflajš, P. Holý, J. Horák, P. Chuchvalec, J. Podešva, P. Rauch, J. Volke; Bulletin: I. Valterová; Webové stránky: R. Liboska, P. Zámstný • ZAHRAŇIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTORŮ/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA), V. Větvicka (USA), L. Opletal (Hradec Králové), P. Tarkowski (Olomouc), Z. Kolská (Ústí nad Labem) • KONZULTANT/CONSULTANT: J. Kahovec • VÝKONNÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: R. Řápková • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: E. Borsig, M. Černá, L. Cervený, E. Dibuszová, J. Hanika, Z. Havlas, I. Kadlecová, J. Káš, J. Koubek, T. Míšek, J. Pacák, V. Pačes, O. Paleta, V. Růžička, I. Stibor, V. Šimánek, R. Zahradník • ADRESA PRO ZASÍLÁNÍ PŘÍSPĚVKŮ/MANUSCRIPTS IN CZECH, SLOVAK OR ENGLISH CAN BE SENT TO: Chemické listy, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel./phone +420 221 082 370, fax +420 222 220 184, e-mail: chem.listy@csvts.cz • INFORMACE O PŘEDPLATNÉM, OBJEDNÁVKY, PRODEJ JEDNOTLIVÝCH ČÍSEL A INZERCE/INFORMATION ADS: Sekretariát ČSCH, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel/fax +420 222 220 184, e-mail: chem.spol@csvts.cz, chem.ekonom@csvts.cz • PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL: <http://www.chemicke-listy.cz> • TISK: České Tiskárny, s.r.o., Generála Svobody 335, 533 51 Pardubice - Rosice nad Labem; SAZBA, ZLOM: ČSCH, Chemické listy • Copyright © 2008 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 153 Kč, roční plné předplatné 2008 (12 čísel) 1570 Kč, individuální členské předplatné pro členy ČSCH 785 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 83 EUR (doručování via SCHS), individuální členské předplatné pro členy ČSCH 63 EUR (doručování via SCHS), 234 EUR (individuální doručování), ceny jsou uvedeny včetně DPH • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG; Annual subscription for 2008 (12 issues) 225 EUR • This journal has been registered with the Copyright Clearance Center, 2322 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923, USA, where the consent and conditions can be obtained for copying the articles for personal or internal use • Pokyny pro autory najdete v čísle 1/2002 a na internetu, zkratky časopisů v čísle 10/97 na str. 911 • Chemické listy obsahující Bulletin jsou zasílány zdarma všem individuálním a kolektivním členům ČSCH a ČSPCH v ČR i zahraničí, do všech relevantních knihoven v ČR a významným představitelům české chemie a chemického průmyslu; v rámci dohod o spolupráci i členům dalších odborných společností • Molekulární námět na obálce: M. Pojarová • Dáno do tisku 5.2.2008.