

### 100 let chromatografie

Vědecký vývoj je nepochybně určován zejména zásadními objevy nových jevů či principů, zpravidla svázanými s prací jednotlivce či úzké skupiny osob. Na tyto objevy navazuje systematická, v řadě případů týmová práce, která umožní praktickou aplikaci těchto nových jevů či principů v nejrůznějších vědních disciplínách či v životě celé společnosti. Nezbytnou podmínkou pro tento proces, který nás dovedl až k současnému vysokému stupni rozvoje vědy a techniky, ovšem je, aby byl brzy rozpoznán význam nově objeveného jevu či principu. V řadě případů však tomu tak není, takže ke skutečnému využití objevu a jeho dalšímu rozpracování dojde se značným časovým zpožděním. Tak tomu bylo i v případě objevu chromatografie, jejíž mimořádný význam a ohromné aplikační možnosti byly rozpoznány až několik desítek let po prvotním objevu M. S. Cvětá. Svou první veřejnou přednášku o chromatografii přednesl M. S. Cvět 21. března 1903 na Varšavské univerzitě. Stejné výročí této události, jejíž význam byl plně doceněn teprve mnohem později, si Česká společnost chemická připomene jednak slavnostním seminářem věnovaným stému výročí chromatografie a jednak i sérií článků orientovaných na tuto problematiku v časopise *Chemické listy*. Článek profesorky Smolkové v tomto čísle našeho časopisu je věnován životu a dílu M. S. Cvětá a jeho roli při zrodu nové analytické metody. Přesto, že jeho dílo bylo patřičně oceněno teprve s dlouhým zpožděním, význam jím objevené metody je zcela mimořádný. Chromatografie zásadním způsobem přispěla nejen k rozvoji chemických disciplín (zejména analytické

a organické chemie a biochemie), ale stala se nepostradatelnou metodou i v biologických a lékařských vědách, při kontrole životního prostředí, průmyslových procesů a výrobků atp. Nelze si bez ní představit moderní analytickou, klinickou či toxikologickou laboratoř. Poučný a inspirující je i vývoj chromatografických metod od adsorpční sloupcové chromatografie vyvinuté Cvětěm, přes chromatografii rozdělovací, papírovou, tenkovrstvou, plynovou či vysokoúčinnou kapalinovou až po moderní kapilární či elektrochromatografické techniky. Nesmírný rozmach různých detekčních principů a technik dnes umožňuje stanovení femtomolových množství látek. V dnešní době patří chromatografické metody bezesporu k nejúčinnějším a nejcitlivějším analytickým metodám. Výroba chromatografické instrumentace dnes představuje rozsáhlé a výnosné průmyslové odvětví a totéž platí i o výrobě chromatografických kolon. Moderní počítačem řízená a uživatelsky přívětivá chromatografická instrumentace umožňuje provádět denně stovky chromatografických analýz na jediném přístroji a lze bez nadsázky říci, že další rozvoj společnosti je bez moderních chromatografických metod v podstatě nemyšlitelný. Není na škodu si připomenout, že nic z toho by nebylo možné bez objevu M. S. Cvětá, bez jeho trpělivé a systematické práce a pochopitelně bez nadšení a obrovského pracovního nasazení tisíců bezejmenných chromatografistů, kteří tuto metodu dovedli až k jejím současným výšinám.

Jiří Barek

**100. VÝROČÍ OBJEVU CHROMATOGRRAFIE****Život a dílo M. S. Cvěta****EVA SMOLKOVÁ-KEULEMANSOVÁ**

*Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Albertov 2030, 128 40 Praha 2  
e-mail: Smolkova.Eva@seznam.cz*

Došlo 15.12.02, přepracováno 3.1.03, přijato: 6.1.03.

---

Klíčová slova: M. S. Cvět, chromatografie, historie objevu

---

**Obsah**

1. Úvod
2. Život M. S. Cvěta
3. Badatelská činnost – historie objevu
4. Předchůdci, současníci, oponenti
5. Pokračovatelé, nositelé Nobelových cen
6. Závěr

**1. Úvod**

Většina významných objevů je založena na hluboké znalosti problému (teoretické i experimentální) a navazuje na dílčí kroky, provedené předchozími badateli. Bez významu ve vědě není ani intuice a podíl fantazie. Nebývá také obvyklé určovat zrod vědeckého objevu jedním dnem. V případě chromatografie je celosvětovou odbornou veřejností jako objevitel uznáván M. S. Cvět (viz obr. 1) a její zrod je datován 21. březnem 1903, kdy na zasedání biologické sekce varšavské přírodovědné společnosti přednesl referát, který je jednoznačně uváděn jako počátek chromatografie. Přes počáteční nedůvěru a kritiku Cvětových současníků zaznamenala tato metoda, zejména od 50. let minulého století, ohromný rozvoj, její význam přesáhl hranice chemie a dnes zasahuje do mnoha oblastí přírodovědeckých, lékařských, technických i ekologie.

Je proto oprávněné si po sto letech znovu připomenout osobnost M. S. Cvěta, jeho životní dráhu, okolnosti, za kterých pracoval, výsledky jeho badatelské činnosti a rozsah i dosah jeho objevu.

**2. Život M. S. Cvěta**

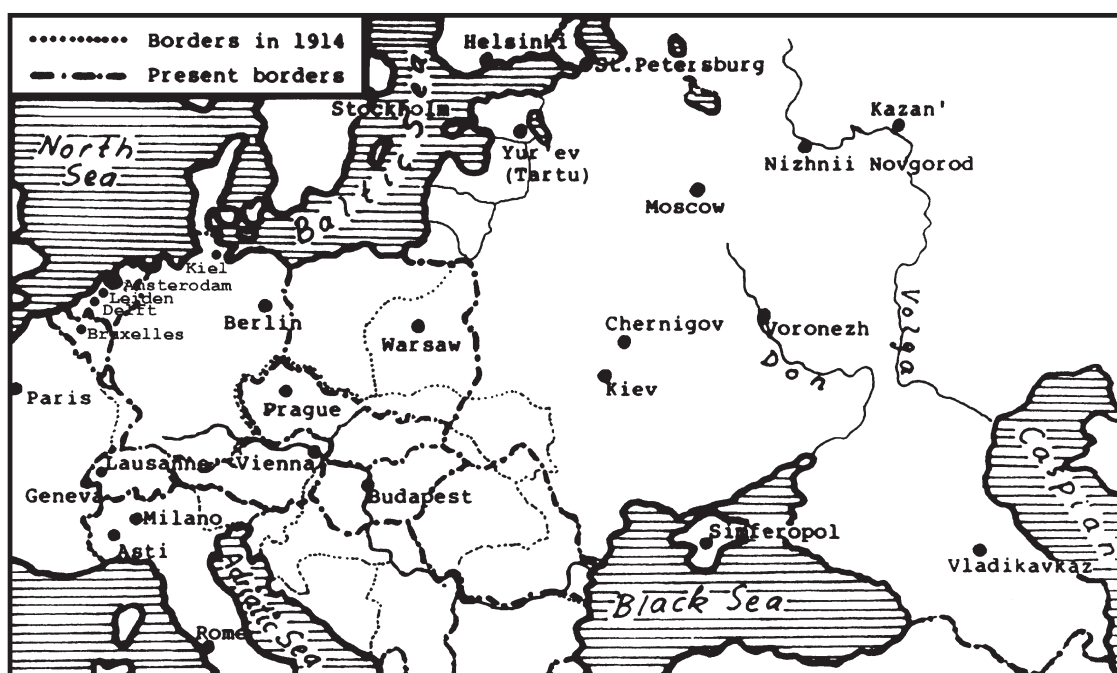
Michail Semjonovič Cvět se narodil 14. května 1872 v malém severoitalském městě Asti (v hotelu Real, kde se jeho rodiče ubytovali na cestě k jezeru Lago Maggiore). Jeho otec, státní úředník, pocházel z Ukrajiny, matka Maria de Doroza, italského původu, se narodila v Turecku a byla vychovávána v Rusku. Matka krátce po porodu zemřela a někteří životopisci Cvěta vyvozují z předčasného porodu (?) zdravotní potíže, kterými Cvět trpěl, a také skutečnost, že zemřel relativně mladý ve věku 47 let.



Obr. 1. M. S. Cvět

Dětství a mládí prožil Cvět ve Švýcarsku, v Lausanne a později v Ženevě, kde vystudoval univerzitu. Ačkoliv je uváděn jako ruský botanik, jeho zájem se již za univerzitních studií soustřeďoval také na chemii a fyziku. Z dnešního pohledu bychom mohli hovořit o jeho fyzikálně-chemickém i biochemickém zaměření. V r. 1896 odjel do Ruska a v Simferopolu dokončil svou dizertaci, na jejímž základě v Ženevě dosáhl hodnosti doktora přírodních věd. Poté pracoval po dobu pěti let (do r. 1901) v Petrohradě, kde vyučoval a věnoval se výzkumu v Laboratoři anatomie a fyziologie rostlin. Jeho vědecká hodnota získaná ve Švýcarsku nebyla v Rusku uznána, a proto začal pracovat na nové magisterské práci, kterou obhájil v Kazani. V r. 1902 získal stálé místo na univerzitě ve Varšavě (v té době byla součástí Ruska), kde působil 14 let. Přednášel botaniku a zemědělství na Ústavu veterinární medicíny, později botaniku a mikrobiologii na chemické a lékařské fakultě Polytechnického institutu. V době 1. světové války (r. 1915) byl ústav evakuován před postupující německou armádou do Moskvy a odtud v r. 1916 ze stejného důvodu do Nižního Novgorodu. V té době byl již Cvět vážně nemocný (tuberkulóza? srdeční potíže? astma?), a proto odjel k rodině své ženy do Vladikavkazu na Kavkaz, kde doufal ve zlepšení svého zdraví. Zde dostal zprávu o jmenování řádným profesorem botaniky na tehdy proslulé univerzitě v Jurjevu (později přejmenované na Tartu, Estonsko). Toto samostatné postavení bylo splněním jeho dlouholetého přání, avšak jen nakrátko. Město bylo okupováno Němci a v září 1918 se ruská část univerzity přesunula do Voroněže. Zde Cvět 26. června 1919 umírá. Jeho osud se „naplnil“ ještě i po smrti. Cvět byl pohřben na hřbitově u Aleksejevského kláštera, který byl ve 2. světové válce při bojích s Němci zcela zničen, a Cvětův hrob se nepodařilo lokalizovat.

(Malý dovětek, zajímavý možná pro českého čtenáře. Podle několika pramenů se Cvět v r. 1907 oženil s Helenou roz.



Obr. 2. Významná místa působení a kontaktů M. S. Cvěta (viz cit.<sup>39</sup> – upraveno a doplněno)

Truciewiczovou, která byla údajně českého původu, i když jméno tomu zcela nenasvědčuje. Po Cvětově smrti se dostala zpět ke svým příbuzným do horské obce Abrau-Djurso, blízko Vladikavkazu. V nedaleké vsi Glebovka učila na české škole až do své smrti v červnu 1922.)

Místa pobytu a působení M. S. Cvěta spolu s kontakty, které měl s různými odbornými pracovišti v Evropě, zachycuje obr. 2. Upomínkou na jeho pobyty jsou pamětní desky na domech, ve kterých žil. Desky byly v průběhu let, zejména ke 100. výročí jeho narození, umístěny např. v Asti, Petrohradu, Tartu.

Biografie Cvěta se stala ve 2. polovině 20. století předmětem zájmu mnoha chemiků. Zsvěcené studie založené na mnohaletém shromažďování materiálu publikovali od sedmdesátých let zejména Sakodinskyj a Ettore<sup>1-7</sup>. U nás se této tematice věnoval Hais, který zveřejnil, mimo jiné, též kompletní seznam Cvětových prací<sup>8</sup>.

### 3. Badatelská činnost – historie objevu

Hlavní údobí vědecké práce Cvěta jsou spojena nejen s různými místy pobytu (Ženeva, Petrohrad, Varšava), ale do značné míry i s řešením různých problémů souvisejících se studiem chloroplastů. Fotosyntéza jako jeden z nejvýznamnějších biologických problémů patřila k jeho zájmům již v době univerzitního studia v Ženevě, kde se věnoval morfologickému studiu chloroplastů. V Petrohradě studoval hlavně chemickou stránku, zejména barviva chloroplastů, a hledal účinnou a šetnou metodu jejich separace. Cílem byla izolace chlorofylu, který by si zachoval vlastnosti barviva v přírodním stavu. Rozporuplné údaje o chlorofylu, uváděné v odborné literatuře, přisuzoval právě nevhodnosti používaných izolačních metod. Soustředil se proto na možnost využít metodu fyzikální. Již

kolem roku 1890 se začal zabývat adsorpčními jevy. Tato svá pozorování podrobněji uvedl ve své magisterské práci (1901), ve které se zabýval vývojem nové metody založené na fyzikální adsorpci látek rozpuštěných v organických kapalinách na různých minerálech nebo tuhých organických látkách<sup>9</sup>.

Významné údobí badatelské činnosti spadá do Cvětova varšavského pobytu (1902–1915), kdy shrnuje své poznatky v historické přednášce nazvané *O novej kategorii adsorpčních javlenij i o primenenii ich k biochimičeskomu analizu*, kterou o dva roky později (1905) publikuje v místním vědeckém periodiku<sup>10</sup>. Doposud používá označení „nová metoda“, zatímco termín „chromatografie“ se objevuje až v německy psané publikaci z r.1906 nazvané *Adsorption-analyse und chromatographische Methode. Anwendung an die Chemie des Chlorofylls*<sup>11</sup>, kde píše: „...různé složky pigmentu lze rozdělit na koloně s uhličitanem vápenatým, a tak je kvalitativně i kvantitativně určit. Tuto preparaci nazývám chromatogram a odpovídající metodu chromatografická metoda“. A dále: „...Je samozřejmé, že popsání adsorpční jevy nejsou omezeny na pigmenty chlorofylu, a lze předpokládat, že se všechny barevné i bezbarvé chemické sloučeniny budou chovat podle stejných zákonů“. Ve stejném roce publikuje též práci *Physikalisch-chemisches Studium über Chlorofyll. Die Adsorption*<sup>12</sup>. Obě sdělení obsahují všechny důležité aspekty chromatografie a doporučení pro volbu vhodných adsorbentů (prostudoval přes 130 látek) a rozpouštědel včetně dalších pracovních podmínek (rozměry kolon atd.).

Uvedené práce publikované v dostupném jazyce (němčina byla tehdy hlavním odborným jazykem) a v renomovaném časopise *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* vzbudily zájem současníků, ale pro novost pojetí a metody zkoumání se zároveň staly předmětem i mnoha polemik s odborníky z různých zemí (viz kapitola 4.).

Mezitím Cvět dále soustřeďoval výsledky svého bádání a prohluboval své znalosti o rostlinných pigmentech, zejména chlorofylech. Získané poznatky zpracoval v knize *Chromofily v rostitelnom i životnom mire*<sup>13</sup>, která byla zároveň jeho doktorskou dizertací. První část pojednává o chromatografické technice, ve druhé jsou popsány výsledky studia přírodních pigmentů a ve třetí části jsou prezentovány Cvětovy představy o mechanismu fotosyntézy.

V letech 1906–1911 Cvět pokračoval ve výzkumu rostlinných pigmentů včetně karotenoidů (je málo známé, že pojmenování karotenoidy jako společně označení karotenů, xantofylů a příbuzných sloučenin pochází od Cvěta, a až po deseti letech bylo obecně přijato<sup>5</sup>). V dalších letech Cvětova vědecká a publikační činnost klesá. Částečně je to způsobeno velkým zatížením pedagogickým, zhoršujícím se zdravím a přesuny na nová pracoviště v důsledku válečných událostí (viz dříve).

Úplný výčet prací v rozpětí let 1894–1916 zveřejnil v tomto časopise Hais<sup>8</sup>. Z tohoto seznamu lze mimo obsahové stránky jednotlivých sdělení zjistit, že Cvět své první práce publikoval francouzsky (což bylo dáno studiem ve Švýcarsku) a v dalších letech, od r. 1898, vedle ruštiny a francouzštiny také německy. Tvzení, že nebyl ve své době dostatečně znám z důvodů jazykové bariéry, není tedy zcela oprávněné. Nodocenění jeho práce spočívá spíše v nedůvěře k chromatografické metodě, a tím i k výsledkům Cvětova výzkumu. Je však pravda, že jeho stěžejní práce představující zrod chromatografie byla prezentována ruský, stejně jako jeho hlavní dílo, kniha z r. 1910. Tyto práce byly přeloženy a publikovány, s výjimkou soukromého překladu pro Willstaettera, až se značným časovým odstupem. Teprve v r. 1954 vychází zásluhou Hesseho a Weila německý a anglický překlad Cvětovy první práce o chromatografii<sup>29</sup>.

Důležitou součástí Cvětovy vědecké činnosti byly také odborné kontakty s řadou zahraničních pracovišť. Cvět zejména v letech 1902–1911 opakovaně navštěvoval a udržoval styky s botanickými zahradami a univerzitami v Berlíně, Kielu, Amsterdamu, Leidenu, Delftu, Bruselu a Paříži (viz obr. 2). Čile také korespondoval a na stránkách odborného tisku zveřejňoval články, ve kterých ostře polemizoval s názory a výsledky prací tehdy renomovaných odborníků a obhajoval výsledky svých bádání.

#### 4. Předchůdci, současníci, oponenti

Počátek vzniku chromatografie je různými autory, sledujícími kořeny této metody, umísťován do různých časových údobí. Rozhodující přitom je základní pohled, zda je zvažována přednostně separace látek ze směsi, pracovní technika nebo izolace určitého typu látek. Tato rozdílná hlediska způsobují, že jako předchůdci jsou uváděni autoři prací, které jsou datovány v rozpětí několika desítek let i staletí.

Za bezprostřední předchůdce Cvěta jsou většinou považováni Schoenbein (1861) a jeho žák Goppelsroeder<sup>6,8,41</sup>, který zdokonalil způsob separace pigmentů metodou kapilární migrace na zavěšeném proužku papíru. Cvět znal tyto práce a později upozornil na analogii mezi papírem při kapilární analýze, kterou Goppelsroeder kolem r. 1900 označoval jako adsorpční analýzu<sup>14</sup>, a sloupcem sorbentu v jeho metodě.

Často jsou jako předchůdci označováni petrolejářští chemici, zejména D. T. Day (1859–1925) (cit.<sup>6,8</sup>), kteří ve snaze

zjistit změny složení ropy při průchodu zeminou a najít způsob jejího čištění, modelovali své pokusy tak, že nechali ropu procházet sloupcem adsorbentu umístěného v trubici. Day, významná osobnost geologického výzkumu v USA, se zabýval frakcionací ropy (1897) a v r. 1900 na mezinárodním petrolejářském kongresu v Paříži referoval výsledky tohoto výzkumu. Zřejmě si uvědomoval i možnosti analytického využití navrhovaného postupu. Zmíněné možnosti však nebyly využity ani v analytickém ani v preparativním měřítku. Studovaný děj nepřesně interpretoval jako kapilární difuzi. I když tyto práce nebyly Cvětovi jako biologu známé, lze je z hlediska historie adsorpční chromatografie považovat za důležité.

Není bez zajímavosti, že o několik desetiletí později (1941) biochemici Martin a Synge objeví metodu rozdělovací chromatografie, která se v systému plyn–kapalina v nebyvalém měřítku rozšířila právě v petrochemických závodech.

Přístup současníků Cvěta k jeho objevu a vědecké práci je třeba chápat v širších souvislostech. Zájem chemiků na přelomu století byl orientován především na syntézy a na izolaci jedné nebo dvou látek a jejich podrobné studium. Příprava „čistých“ látek se prováděla většinou krystalizací. Cvětův objev separace všech pigmentů obsažených v rostlinné matici představoval radikální změnu v myšlení. Proto jeho práce od počátku poutaly na sebe pozornost, ale byly také podstatou velmi polemických vystoupení.

Již při obhajobě doktorské práce byla nová koncepce a nezvyklá prezentace předmětem kritiky jednoho z oponentů. Přes výtky, které se týkaly fyzikálně-chemické interpretace a některých formálních záležitostí, bylo konstatováno, že jde „...o zajímavý a slibný výzkum v obtížné oblasti“ (cit.<sup>1</sup>). V r. 1911 byl Cvět za tuto práci vyznamenán Ruskou akademií věd prestižní cenou N. Achmatova.

Je známo, že Cvět vedl velmi živé diskuse se svými současníky i na stránkách odborného tisku. Způsob jeho vědecké argumentace a často ostře polemický tón, kterým hodnotil práce renomovaných badatelů, byl pro Cvěta charakteristický a zároveň vyvolával kritické postoje k jeho práci. Byly to hlavně polemiky s Marchlewskim, profesorem na univerzitě v Krakově, Kohlem z univerzity v Marburku a Molischem, v té době ředitelem Ústavu fyziologie rostlin na pražské univerzitě, kteří byli uznávanými autoritami, stejně jako Willstaetter, vůdčí osobnost německé organické chemie.

Jako příklad lze uvést polemiku s Molischem, který byl ve své době jedním z nejváženějších botaniků v Evropě. Cvět v článku „*Kritische Bemerkungen zu Molisch's Arbeit über die Phaeophyceen-Farbstoffe*“ (cit.<sup>15</sup>) nesouhlasil (na základě vlastních experimentů, které však neuvedl) s některými Molischovými závěry. Molisch na tuto kritiku reagoval a výsledkem byla řada polemických článků<sup>41</sup>. Cvětova kritika se týkala též práce českých badatelů Stoklasy a spol., kteří jako první (již v r. 1908) použili chromatografii ke studiu chlorofylu<sup>16,17</sup>. Cvět oprávněně vyvracel Stoklasův názor na přítomnost fosforu v chlorofylu<sup>18</sup>.

Širší záběr měly argumentace mezi Cvěttem a Willstaetrem, které, i když velmi kritické, byly vedeny na akademické úrovni. Willstaetter, stejně jako i další oponenti, poukazovali zejména na problém „čistoty“ separovaných látek v důsledku chemických reakcí, které se mohou uplatňovat na adsorbentu. Dalšími protiargumenty byly nevhodnost metody pro převedení z analytického do preparativního měřítka, nutnost správně

ného výběru rozpouštědel a volby dalších parametrů. Některým kritickým připomínkám nahrávalo například, že Cvět použil ke studiu chlorofylu v původním uspořádání jako adsorbent uhličitán vápenatý, který mohl způsobit zkreslení výsledků. Opomenuli však, že Cvět v té době sám upozorňoval na poškození chlorofylu „agresivními“ adsorbenty a doporučoval práškovou sacharózu, jejíž chemickou pasivitu zdůrazňoval; a ta se doposud v chromatografii chlorofylu používá<sup>19</sup>.

V případě Willstaettera je třeba upozornit, že v době, kdy se začal zabývat detailně výzkumem chlorofylu, měl Cvět v této problematice již značné experimentální zkušenosti. Rozdílné názory měli i na existenci chlorofylu. Cvět považoval krystalický chlorofyl za artefakt již v r. 1901. Přes kritické připomínky Willstaetter Cvětovu metodu zcela neodsoudil a hovořil o ní i ve své knize z r. 1913 (cit.<sup>20</sup>). Přestože se Willstaetter dopracoval v otázkách chlorofylu ke stejným výsledkům jako Cvět až o řadu let později, byl to on, kdo obdržel za výzkum rostlinných pigmentů, zejména chlorofylu, v r. 1915 Nobelovu cenu.

Je málo známou skutečností, že Cvět byl v r. 1918 také navržen na Nobelovu cenu za chemii za výzkum v oblasti chlorofylu a dalších rostlinných pigmentů (nikoliv za chromatografii)<sup>21</sup>. Nominován byl C. van Wisselingem, profesorem farmacie a toxikologie na univerzitě v Groningen (v letech 1916–17 rektor univerzity), který svůj návrh dokládá 12 pracemi a ruskou publikovanou knihou z r. 1910. V závěru návrhu se stručně zmínil o chromatografii s poukazem na Willstaettera. Předseda komise pro udělení ceny za chemii O. Hammersten ve svém hodnocení uvádí chromatografii jako nejoriginálnější příspěvek, ale zároveň upozorňuje, že podobné separace byly jinými metodami provedeny Willstaetterem. Závěr nebyl doporučující. Důvody je možné spatřovat v tom, že 1) separační metoda nebyla oproti klasickým metodám obecně uznávaná, 2) návrh na cenu byl za chemii, ačkoliv předmětem zkoumání byly pigmenty v rostlinách, které Cvět na rozdíl od Willstaettera tak intenzivně a systematicky chemicky nezkoumal, 3) výsledky byly publikovány v botanických, nikoliv chemických časopisech. Nobelovu cenu za chemii v r. 1918 tak obdržel Fritz Haber za syntézu čpavku z vodíku a dusíku.

Cvětovy rozpory s jeho současníky narážely především na výsledky v oblasti rostlinných barviv a v této souvislosti byla napadána i chromatografická metoda. Budoucnost ukázala, že Cvětovy závěry a obhajoba vlastní práce byly správné a jeho námítky vůči oponentům ve své většině oprávněné. Skutečností ale zůstává, že nevytvořil vědeckou školu, neměl spolupracovníky ani žáky, kteří by pokračovali v jeho práci a dosah šíření jeho významných výsledků byl omezený. V letech 1911–1930 bylo publikováno jen asi 30 prací z oblasti chlorofylů a karotenoidů, ve kterých byla využita Cvětova metoda.

## 5. Pokračovatelé, nositelé Nobelových cen

Krátce po Cvětově smrti byli nejvýznamnějšími pokračovateli L. S. Palmer v USA a R. Kuhn se svými spolupracovníky v Německu.

Palmer znal Cvětovy důležité práce zveřejněné v německých a francouzských časopisech i Cvětovu knihu. V r. 1922 publikoval monografii o karotenoidech<sup>22</sup>, kde se podrobně zabýval i Cvětovou prací a metodou. Palmerova kniha byla po

řadu let hlavním zdrojem informací o chemii karotenoidů a v historii chromatografie bývá uváděna jako její „znovuzrození“.

Přesto byla ještě koncem 20. let minulého století chromatografie jako preparativní (purifikační) metoda dost kategoricky odmítána. Teprve Paul Karrer, významný organický chemik a nositel Nobelovy ceny (1937) za výzkum karotenoidů, flavinů a vitaminů A a B, píše v roce 1939 „...bylo by chybou domnívat se, že preparát čištěný krystalizací by měl být čistší než látka získaná chromatograficky. Ze všech současných výzkumů vyplývá, že chromatografické čištění daleko převyšuje výsledky krystalizace.“ (cit.<sup>23</sup>). (Dnes preparáty označované jako „chromatograficky čisté“ představují vyšší čistotu než chemikálie označované p.a.).

Také laboratoř R. Kuhna, nositele Nobelovy ceny (1938) za vědecké práce o karotenoidech a vitamínech, se stala významným centrem, kde byla chromatografie využívána. Kuhn, žák Willstaettera, se seznámil s překladem Cvětovy knihy o chromatografii (viz dříve) a intenzivně ji při svých výzkumech používal. V r. 1931 publikoval spolu s Wintersteinem a Ledererem klíčovou práci o purifikaci xantofylů na CaCO<sub>3</sub> metodou adsorpční chromatografie<sup>24</sup>. Edgar Lederer vedle významných vědeckých výsledků v oblasti karotenoidů, vitaminu A<sub>2</sub>, feromonů a dalších důležitých látek publikoval od r. 1934 řadu knih o chromatografii<sup>25</sup>.

U nás v r. 1934 vychází o karotenoidech práce Řetovského a Urbana<sup>26</sup>, kteří také ve svých výzkumech použili Cvětovu metodu.

Koncem 30. let se chromatografie stává uznávanou metodou a je stále více využívána i v pracích dalších laureátů Nobelových cen – Ruzicka (1939), Butenandt (1939) (cit.<sup>27</sup>).

Ve 40. letech je chromatografie dále rozvíjena. Cvětova představa o použití chromatografie jak pro látky barevné, tak bezbarvé, se rozšiřuje i na látky v plynném stavu. Touto problematikou se od r. 1941 zabýval Gerhard Hesse, který v r. 1943 publikoval knihu nazvanou *Adsorptionsmethoden im chemischen Laboratorium mit besondere Berücksichtigung der chromatographischen Adsorptions-Analyse (Tswett-Analyse)*<sup>28</sup>. Později spolu s Weilem zveřejnili německý a anglický překlad Cvětovy první práce<sup>29</sup>.

Monografie Hesseho inspirovala E. Cremerovou (1946) k využití chromatografie ke studiu adsorpčních dějů v systému plyn–tuhá fáze<sup>30</sup>. Na možnosti využití adsorpční chromatografie ke studiu adsorpčních isoterem upozornil již v r. 1945 Glückauf<sup>31</sup>. Přířímou návaznost na tyto práce měl začátkem 50. let i výzkum v oblasti chromatografie plyn–adsorbent v našich zemích<sup>32</sup>.

Je na místě připomenout, že v průběhu 40. let pokračovalo využívání původního Cvětova objevu, adsorpční kapalinové chromatografie, nejen chemiky, ale i biologie a lékaři, z nichž někteří se stali nositeli Nobelovy ceny<sup>27</sup>. Pro všechny však byla chromatografie prostředkem k bádání. První, kdo v r. 1948 obdržel Nobelovu cenu za rozvoj metody, byl A. Tiselius, a to „za výzkumy elektroforézy a adsorpční chromatografie ... zejména za objevy komplexní povahy sérových bílkovin“. Tiselius sám uváděl, že jeho práce jsou modifikací Cvětovy metody. V jeho uspořádání procházel roztok z kolony přímo do mikroiinterferometru, který kontinuálně zaznamenával koncentraci sledované látky. Tiseliovi jsou také připisovány pracovní techniky frontální, eluční a vytěšňovací analýzy, jejichž začátky je možno vysledovat již v pracích Cvěta.

a



b



Obr. 3. **Cvětovy medaile:** a – udělována organizátory symposia *Advances in Chromatography* v letech 1974–1988, b – udělena Akademií věd SSSR k 75. výročí objevu chromatografie v Talinu v roce 1978

Významný zlom v historii chromatografie však představuje objev rozdělovací chromatografie Martinem a Syngem<sup>33</sup>. Autoři vycházeli ze skutečnosti, že v této metodě je separační funkce lineární v širším koncentračním rozmezí než mezi kapalinou, resp. plynem, a tuhou fází v případě adsorpční chromatografie, což významně ovlivňuje separační vlastnosti systému, a tím i analytické využití rozdělovací chromatografie. V práci z r. 1941 již uvádějí, že mobilní fázi nemusí být kapalina, ale lze užít též permanentní plyn. Význam a dosah jejich objevu byl v r. 1952 oceněn Nobelovou cenou.

Další desetiletí minulého století představují nebyvalý rozvoj chromatografie. V 50. letech je to zejména plynová chromatografie v systému plyn–kapalina, jejíž počátek je datován prací Martina a Jamese<sup>34</sup> z r. 1952. Půl století této metody, její historii a trendům je věnován i recentní soubor článků zveřejněný v časopise *Trends in Analytical Chemistry* v r. 2002 (cit.<sup>35</sup>).

Propracované teorie umožnily přípravu stále účinnějších kolon, zdokonalovala se instrumentace a rozšiřovaly aplikační možnosti. Teoretické znalosti a praktické zkušenosti daly základ k renesanci Cvětovy kolonové kapalinové chromatografie v uspořádání vysokoúčinné kapalinové chromatografie, které je v dalších letech dávána přednost před chromatografií plynovou. Obě metody jsou ve skutečnosti kompatibilní. Na analogických teoretických základech jsou postaveny i moderní elektromigrační metody.

Ve 40. letech 20. století rozvíjeli chromatografii botanici, biochemici, organičtí, anorganičtí i fyzikální chemici. V 50. letech si dosah uvědomili zejména pracovníci v petrochemii. Od 60. let dochází k uplatnění chromatografie v nejrůznějších průmyslových odvětvích (vedle petrochemie především ve farmaceutickém, potravinářském, kosmetickém a tukovém průmyslu), stejně jako v různých vědních oblastech, a kruhem zpět do oblastí biochemie, zdravotnictví, ekologie i zemědělství.

Zpracovatelé historie chromatografie, ovlivnění ohromným rozvojem a uplatněním rozdělovací chromatografie často redukuje význam adsorpční chromatografie na několik odkazů a opomíjejí její důležitost i v dalším rozvoji. V plynové chromatografii byly na výzkumech v oblasti adsorpční chromatografie založeny celé školy. Jejich význam tkví především ve

studiu adsorpčních dějů a mezimolekulárních interakcí s praktickými důsledky při sledování různých materiálů a vývoji nových sorbentů jak pro plynovou, tak v dalším vývoji i pro vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii (zeolity, různé modifikované silikagely, uhlíkaté sorbenty, organické polymery, chemicky modifikované povrchy aj.). Byly to zejména práce pocházející z laboratoří A. V. Kiseleva<sup>36</sup> a A. A. Žuchovického<sup>37</sup>, ale i výzkum našich chromatografistů, kteří navazovali na Cvětovu metodu, a to nejen v kolonovém, ale i plošném uspořádání.

Jednoznačné uznání Cvětova objevu a díla vedlo v průběhu doby k uspořádání mezinárodních symposií pořádaných na jeho počest a vydání monografií věnovaných 75. výročí chromatografie<sup>38</sup> a historii let 1900–2000 (cit.<sup>39</sup>). Cvětův vliv na další rozvoj chromatografie ve všech jejích modech je nepopíratelný. Uznání historického významu jeho objevu vedlo také k udělení medailí M. S. Cvětě za významný podíl na rozvoji chromatografie. Z iniciativy organizátorů významného mezinárodního symposia *Advances in Chromatography* byla v USA založena tradice každoročního předávání medailí M. S. Cvětě (viz obr. 3a). Tato ocenění byla v letech 1974–1988 udělována významným chromatografistům. Prvními držiteli se stali: E. Cremerová, D. H. Desty, A. I. M. Keulemans, A. V. Kiselev a A. J. Martin (více o těchto osobnostech lze nalézt v pracích<sup>38–40</sup>). Češi, kteří obdrželi toto ocenění, byli: J. Janák (1975), M. V. Novotný (1984) a K. Macek (1985). Při příležitosti 75. výročí chromatografie, na symposiu, které se konalo v r. 1978 v Talinu, udělila Akademie věd SSSR medaile M. S. Cvětě (obr. 3b) za zásluhy o rozvoj chromatografie řadě dalších chromatografistů. Z československých vědců ji obdrželi: J. Franc, I. Hais, J. Janák, E. Smolková-Keulemansová a K. Macek.

Je nad rámec tohoto článku sledovat další všestranný rozvoj chromatografie jak z hlediska rozvíjení technik, instrumentace, aplikačních oblastí, tak teoretických přístupů. Ohromné množství literatury, původních sdělení, souborných článků a monografií dokumentuje mimořádný význam Cvětova objevu. Důležitý podíl na rozvoji chromatografie mají také práce autorů z našich zemí. Zhodnocení jejich významu by vyžadovalo samostatné zpracování. Určitým vodítkem mohou

být početné monografie přeložené nebo přímo publikované v zahraničí, vysoká citovanost prací i různá mezinárodní uznání.

## 6. Závěr

Je známo, že v historii vědy lze často vysledovat opakující se nebo i zapomenuté objevy, které po dlouhé době, v jiných podmínkách, jsou znovu objevovány. Cvětovy objevy základů mnoha později vynalezených chromatografických technik jsou toho důkazem. Již Cvět zjistil (a teoreticky odvodil), že ostrost dělení v koloně se zvyšuje s jemnějším zrněním. Zvýšený odpor kolony překonával zvýšením tlaku (i když malým, jen 0,5 atm) na vstupu nebo odsáváním na konci kolony. Lze tedy říci, že postupoval způsobem, který byl mnohem později realizován ve vysokoúčinné kapalinové chromatografii. Při studiu adsorbentů zjistil, že některé jsou hygroskopické povahy, což umožňovalo zadržování vody. Pracoval tedy v podstatě se zakotvenou vodnou fází. Předpokládal, že jde o adsorpci na mezifázi vodného roztoku s organickou mobilní fází, nikoliv o vstup dělených látek do kapalně stacionární fáze. Kdyby toto uvážil, byl by objevil rozdělovací chromatografii několik let před Martinem a Syngem. Vzhledem k zaměření na adsorpční chromatografii považoval Cvět zachycování bílkovin na anorganických solích za chemický děj. Dnes bychom hovořili o iontově-výměnné chromatografii. Analogií mezi vlastnostmi papíru a vrstvou uhlíčitánu vápenatého předjímal tenkovrstvou chromatografii. Použil také průchod plynu (vzduchu nebo methanu) kolonou, i když jen pro odstranění rozpouštědla.

Podrobnější sledování Cvětových přínosů jen dále dotvrzuje jeho výjimečnost a jeho významné postavení v historii vědy jako zakladatele chromatografie.

*Za četné rady, podporu a technickou pomoc děkuji Evě Tesařové.*

## LITERATURA

- Sakodynskij K. I.: *Michael Tswett, Life and Work*. Carlo Erba (sponzor), Viapiani Milano (rok neúveden).
- Sakodynskij K. I.: *J. Chromatogr.* 49, 2 (1970).
- Sakodynskij K. I.: *J. Chromatogr.* 73, 303 (1972).
- Sakodynskij K. I.: *J. Chromatogr.* 202, 1 (1981).
- Ettre L. S., Sakodynskij K. I.: *Chromatographia* 35, 223 (1993).
- Ettre L. S.: *Anal. Chem.* 43, 20A (1971).
- Ettre L. S.: *Chromatographia* 51, 7 (2000).
- Hais I. M.: *Chem. Listy* 68, 260 (1974).
- Cvět M. S.: *Tr. Kazansk. Obšč. Estestsvoispyt.* 1901, 35.
- Cvět M. S.: *Tr. Varšavsk. Obšč. Estestsvoispyt. Otd. Biol.* 14, 20 (1903).
- Tswett M.: *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 24, 384 (1906).
- Tswett M.: *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 24, 316 (1906).
- Cvět M. S.: *Tipogr. Varšavsk. Učebn. Okruga, Varšava* 1910.
- Goppelsröder F.: *Capillaranalyse beruhend auf Capillaritäts- und Adsorptionserscheinungen*. Birkhauser, Basel 1901.
- Tswett M.: *Bot. Z.* 63, 273 (1901).
- Stoklasa J., Brdlík V., Just J.: *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 26, 69 (1908).
- Stoklasa J., Brdlík V., Ernest A.: *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 27, 10 (1909).
- Tswett M.: *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 26A, 214 (1908).
- Šesták Z.: *Chem. Listy* 68, 270 (1974).
- Willstätter R., Stoll A.: *Untersuchungen über Chlorophyll. Methoden und Ergebnisse*. Springer, Berlin 1913.
- Ettre L. S.: *Chromatographia* 43, 343 (1996).
- Palmer L. S.: *Carotenoids and Related Pigments: The Chromolipids*. Am. Chem. Soc. Monograph Series, Chemical Catalog Co., New York 1922.
- Karrer P.: *Helv. Chim. Acta* 22, 1149 (1939).
- Kuhn R., Winterstein A., Lederer E.: *Z. Physiol. Chem.* 197, 141 (1931).
- Lederer E., Lederer M.: *Chromatography: A Review of Principles and Applications*, kap. 1–6. Elsevier, Amsterdam 1953.
- Řetovský R., Urban A.: *Chem. Obzor* 9, 201 (1934).
- Hais I. M.: *J. Chromatogr. Chromatogr. Rev.* 86, 283 (1973).
- Hesse G.: *Adsorptionsmethoden im chemischen Laboratorium mit besonderer Berücksichtigung der chromatographischen Adsorptionsanalyse (Tswett-Analyse)*. W. de Gruyter, Berlin 1943.
- Hesse G., Weil H.: *Michael Tswett's First Paper in Chromatography*. Woelm, Eschwege 1954.
- Cremer E., Prior F.: *Z. Elektrochem.* 55, 66 (1951).
- Glückauf E.: *Nature* 156, 748 (1945).
- Janák J.: série sdělení o chromatografické analýze plynů publikovaných v *Chem. Listech* v letech 1953–1959; odkazy na soubor těchto prací v Ettre L. S.: *LC-GC (North America)* 20, 866 (2002).
- Martin A. J. P., Syngé R. L. M.: *Biochem. J.* 35, 1358 (1941).
- Martin A. J. P., James A. T.: *Biochem. J.* 50, 679 (1952).
- Práce ve zvláštním čísle časopisu *Tr. Anal. Chem.* 21, No. 9/10, 545–698 (2002).
- Kiselev A. V., Jašin J. I.: *Adsorpcionnaja chromatografija*. Nauka, Moskva 1967; *Adsorpcionnaja gazovaja i židkostnaja chromatografija*. Chimija, Moskva 1979; *Adsorpcionnaja plynová a kapalinová chromatografije*. SNTL, Praha 1988.
- Ettre L. S., Berezkin V. G.: *LC-GC (North America)* 18, 1148 (2002).
- Ettre L. S., Zlatkis A. (ed.): *75 Years of Chromatography – A Historical Dialogue*. Elsevier, Amsterdam 1979.
- Gehrke C. W., Wixom R. L., Bayer E. (ed.): *Chromatography: A Century of Discovery 1900–2000*. Elsevier, Amsterdam 2001.
- Smolková-Keulemansová E.: *J. High. Resolut. Chromatogr.* 23, 497 (2000).
- Ettre L. S., Sakodynskij K. I.: *Chromatographia* 35, 329 (1993).

### E. Smolková-Keulemansová (Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague): 100th Anniversary of the Discovery of Chromatography

The article is devoted to the discovery of chromatography by M. S. Tswett. The life and scientific work of the founder as well as of his contemporaries and followers are presented. The Nobel prize winners whose work was connected with the use and further development of chromatography are mentioned. A few milestones in the history of chromatography are pointed out and their importance is discussed.

# PROCES STARNUTIA A HODNOTENIE STABILITY GRAFICKÝCH ZOBRAZENÍ

MILENA REHÁKOVÁ, MILAN MIKULA,  
MICHAL ČEPPAN a BORIS MALEC

*Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita Bratislava, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika  
e-mail: rehakova@chelin.chtf.stuba.sk*

Došlo 29.1.02, prepracované 10.4.02, prijaté 1.8.02.

Kľúčové slová: urýchlené starnutie, papier, tlačová farba, svetlostálosť, stabilita grafických zobrazení, metódy urýchleného starnutia

## Obsah

1. Úvod
2. Faktory ovplyvňujúce stabilitu grafického obrazu
  - 2.1. Nosné médium
  - 2.2. Obrazotvorné médium
  - 2.3. Vzájomné interakcie
  - 2.4. Vonkajšie podmienky
3. Metódy používané pri sledovaní stability grafických zobrazení
  - 3.1. Metódy starnutia
  - 3.2. Metódy hodnotenia zmien

## 1. Úvod

Materiálna stránka grafickej informácie je realizovaná komplexným systémom zloženým z nosného materiálu, ktorým najčastejšie býva papier, prípadne polymérna alebo kovová fólia, a obrazového média – farby, tušu, tlačovej farby, atramentu, tonera či svetlocitlivej vrstvy. Všetky zložky a ich vzájomné interakcie významnou mierou ovplyvňujú vlastnosti výsledného grafického zobrazenia. V poslednom desaťročí zaznamenala oblasť tvorby a výroby grafických obrazov – polygrafický priemysel – značný kvalitatívny technologický pokrok. Vďaka digitálnym technológiám napredujú i klasické tlačové techniky, a to v oblasti prenosu dát, riadenia, obsluhy, kontroly a kvality tlače. Popritom vznikajú principiálne nové technológie, z ktorých mnohé dokážu konkurovať klasickým, ba v niektorých prípadoch ich aj predčia<sup>1</sup>. Kritériá výberu optimálnej technológie sú rôzne, najčastejšie rozhoduje cena a kvalita finálneho výrobku. Jedným z najdôležitejších meradiel kvality grafického obrazu je jeho stabilita – schopnosť v primeranej kvalite uchovať pôvodný obsah. Samozrejme, že pri jej posudzovaní je nutné brať do úvahy aj účel použitia: to, či je informácia vystavovaná účinku denného svetla, prípadne priameho a intenzívneho slnečného žiarenia, spojeného s tvorbou tepla a má slúžiť len krátky čas, alebo opačný extrém – či je informácia určená na archiváciu a dlhodobé používanie.

V prvom prípade je rozhodujúca stabilita obrazového média, v druhom rozhoduje najmä stálosť nosného materiálu. Celkovo je stálosť grafických obrazových materiálov ovplyvnená vnútornými a vonkajšími faktormi.

## 2. Faktory ovplyvňujúce stabilitu grafického obrazu

Vnútorné faktory zahŕňajú zložky tvoriace objekt, t.j.:

- prijímacia vrstva, väčšinou papier a jeho komponenty (celulóza, lignín, aditíva, plnidlá, glejivá),
- tlačová farba a jej zložky (pigmenty, farbivá, spojivá, filmotvorné látky, aditíva, rozpúšťadlá),
- faktory vytvárajúce vzájomný vzťah medzi nosným a obrazotvorným médiom (vrstva náteru, charakter prijímacej vrstvy, fyzikálne a chemické väzby medzi papierom a tlačovou farbou).

Vonkajšie faktory tvoria teplota, relatívna vlhkosť, znečistenie v atmosfére, intenzita a typ zdroja osvetlenia.

### 2.1. Nosné médium

Rozklad papiera starnutím je dôsledkom kyslej hydrolyzy, t.j. hydrolytického rozkladu glukozidickej väzby celulózo-ých a hemiceľulózo-ých makromolekúl, katalyzovaného prítomnými vodíkovými iónmi a oxidácie za spolupôsobenia nečistôt prostredia, vlhkosti a svetla na jednej strane a zosieťovania polysacharidických reťazcov na strane druhej. Podľa podmienok uchovávania sa môže prejaviť okrem chemickej tiež termická, biologická a mechanická deštrukcia. Vo väčšine prípadov sa jedná o kombinácie uvedených dejov. Ich výsledkom je degradácia makromolekúl celulózy, hemiceľulózy a lignínu, zvyšovanie podielu nízkomolekulových frakcií s vysokým zastúpením karbonylových a karboxylových skupín, ktoré majú nepriaznivé dôsledky pre zmenu mechanických vlastností (zníženie pevnosti) a optických vlastností<sup>2</sup> (vznik farebných chromofórov, meniacich zafarbenie papiera).

Zatiaľ, čo čistá celulóza, ako hlavná zložka všetkých druhov papiera, pomerne málo podlieha starnutiu, komerčné druhy buničín a vlákni sa svojou stálosťou veľmi líšia. Dôvodom je prítomnosť látok, ktoré môžu mať vplyv nielen na výsledný farebný vjem výtlačku, ale aj na jeho stálosť voči expozícii svetlom. Percentuálne zastúpenie prídavných látok v papieri je závislé od technologických procesov a podmienok pri výrobe papiera. Jedná sa najmä o vplyv lignínu, spôsob bielenia, prítomnosť plnív, glejív, aditív a optických zjasňovacích prostriedkov.

### Vplyv lignínu

Drevovina vykazuje v dôsledku vysokého obsahu lignínu menšiu stabilitu voči zmenám zafarbenia, ale zachováva si pevnostné vlastnosti. Norma ISO 9706, týkajúca sa zloženia a vlastností stálych a trvanlivých papierov (cit.<sup>3</sup>) dovoľuje len 1% obsah lignínu v papieri; vysoký obsah lignínu spolu s prí-



tomnosťou vápnika môže spôsobiť zhoršenie chemických, fyzikálnych a optických vlastností, čo nie je pre uchovanie informácií žiaduce. Skupina kanadských odborníkov však vrátila teóriu o jednoznačne nepriaznivom vplyve lignínu a na konferencii ASTM v roku 1994 v Philadelphii<sup>4</sup> prezentovala pomerne prekvapivé výsledky, dokazujúce, že lignín nemá negatívny vplyv na zachovanie pôvodnej pevnosti ani pri hodnote pH < 5. Podľa nich papiere s určitým obsahom lignínu sú stabilnejšie voči vplyvu škodlivín v ovzduší, ozón zvyšuje súdržnosť vlákien papiera, ak obsahuje lignín, no rozrušuje papier pri absencii lignínu. Lignín má antioxidačné vlastnosti a chráni celulózu pred oxidačnými činidlami<sup>5</sup>. Obsah lignínu neovplyvňuje trvanlivosť papiera, pokiaľ je papier zneutralizovaný lúhom alebo uhličitanom vápenatým.

#### Vplyv bielenia

Vysoko bielené sulfítové buničiny sú menej stále ako bielené, a buničiny bielené oxidom chloričitým sú stálejšie ako bielené chlórnanom<sup>6,7</sup>. Nepanuje však názorová jednota o tom, či sú sulfátové buničiny stálejšie ako sulfítové. To závisí hlavne od režimu a intenzity bielenia, čo v prípade sulfátových buničín môže viesť pri rovnakom stupni belosti k hlbšiemu odbúraniu celulózy a k vytváraniu karbonylových a karboxylových skupín, ktoré môžu byť príčinou zvýšenej kyslosti papiera<sup>4</sup>.

#### Vplyv plnidiel

K najpoužívanejším plnidlám patrí kaolín a uhličitan vápenatý. Zistilo sa, že ich prídavok zvyšuje odolnosť vláknitých materiálov voči tepelnému starnutiu. Kladný účinok CaCO<sub>3</sub> sa prejavuje na sulfítovej i lanovej buničine, menej na bavlně. Zistilo sa, že CaCO<sub>3</sub> a kaolín kladne vplyvajú na medné číslo pri starnutí papiera a nezúčastňujú sa na degradácii celulózy vlákien. CaCO<sub>3</sub> tlmí narastanie medného čísla sledovaného sulfítového papiera, preto možno o ňom uvažovať ako o komponente zvyšujúcom odolnosť sulfítového papiera voči starnutiu<sup>8</sup>. TiO<sub>2</sub> sa neprejavil ako činidlo stabilizujúce stav vlákien.

#### Vplyv glejenia

Proces glejenia v podstatnej miere ovplyvňuje životnosť papiera a jeho odolnosť voči starnutiu<sup>8</sup>. Skupina tzv. klasických glejidiel vyžaduje na svoju fixáciu na vlákna papieroviny prítomnosť hliníkových iónov. Na dosiahnutie optimálneho procesu glejenia je technologicky správne viesť proces glejenia pri pH okolo 4,8 (cit.<sup>9</sup>). Z hľadiska stálosti a trvanlivosti papiera je však takéto prostredie nevhodujúce, a preto sa usiluje o uskutočňovanie procesu glejenia v neutrálnom prostredí.

K prejavu starnutia papiera okrem straty pevnostných vlastností patrí hlavne zmena farby pôsobením svetla. Zafarbenie môžu spôsobovať chromofóry, vznikajúce chemickými reakciami zložiek z vlákien celulózy, fluorescencia zložiek vlákien, látky tvoriace komplexy s prítomnými kationmi, ktoré absorbujú vo viditeľnej a blízkej UV oblasti<sup>10</sup>.

V procese starnutia polysacharidy prejdú transformáciami vedúcimi ku vzniku zlúčenín typu pentóz a hexóz, ktoré ďalej reagujú za vzniku aromatických fenolových a furánových zlúčenín. Hlavnými produktami premeny sú 5-(hydroxyme-

tyl)-2-furaldehyd a 2-furaldehyd<sup>11</sup>. Tieto môžu jednak kondenzovať s polysacharidmi a lignínom, jednak sú nestále a menia sa na živicové produkty tmavej farby.

Okrem priamej hydrolyzy celulóзовých materiálov dochádza za prítomnosti O<sub>2</sub> ku tvorbe peroxidov, ktoré sa ľahko rozkladajú za tvorby voľných radikálov, spôsobujúcich ďalšie štiepenie základného polymérneho reťazca a urýchľujúcich ďalšiu oxidáciu. Pravdepodobnosť vzniku karbonylových a karboxylových skupín na základnom reťazci, ktoré prispievajú k farebným zmenám (žltnutiu a hnednutiu), je znásobená prítomnosťou prídavných nízkomolekulových látok v papieri slúžiacich ako potenciálny zdroj radikálov<sup>12</sup>.

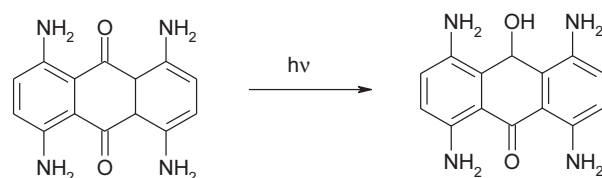
Z hľadiska prijímania farby, ale i celkovej stability vytvoreného grafického obrazu je významná úprava povrchu. Natieranie papiera umožňuje vytvoriť vysokú kvalitu tlače zvýšením kontrastu, optickej hustoty, odolnosti voči vode a variability povrchových vlastností. Použitie aktívnych látok v laminovacom médiu, príp. ďalších zložiek spojiva nesie však so sebou riziko početnejších fotochemických reakcií na povrchu papiera. Túto skutočnosť možno ovplyvniť cieľenou prítomnosťou látok, znižujúcich rýchlosť oxidácie látok na povrchu – antioxidantov, lapačov radikálov a pod.<sup>21</sup>

#### 2.2. O b r a z o t v o r n é m é d i u m

Fotolytické starnutie organických farbív je hlavným faktorom blednutia tlače, keď je vystavená svetlu a UV žiareniu. Svetelné žiarenie dopadá na molekulu farbiva. Časť energie molekula absorbuje a časť sa odráža. Odrazená časť po dopade na sieťnicu oka spôsobuje farebný vnem. Absorbovaná energia zapríčiňuje zvýšenie teploty, predovšetkým excituje molekulu do vzbudeného stavu, jej vnútorná energia sa zvýši. V cykle pozostávajúcom z prechodov medzi vyššími a nižšími energetickými stavmi, sa farbivo väčšinou vracia do pôvodného stavu bez zmeny v molekulovej štruktúre.

Ak je molekula dlhšie exponovaná, zvyšuje sa pravdepodobnosť zmeny v štruktúre molekúl farbiva pri návrate do základného stavu, čoho výsledkom môže byť modifikácia charakteru farebnej absorpcie. Ak sa štiepia dvojité väzby, konjugovaný systém molekuly sa redukuje, čo vedie k zmene absorpčnej a reflexnej schopnosti. To znamená, že rozdielne množstvo svetla (fotónov) je absorbované v danom intervale vlnovej dĺžky, a teda iné množstvo svetla dopadá do nášho oka, čo my vnímame ako zmenu intenzity farebného tónu (vo väčšine prípadov ako blednutie)<sup>13</sup>. Zmena konjugácie systému môže viesť tiež k posunu intervalu absorpčnej vlnovej dĺžky, čo spôsobuje farebný posun. Príkladom je chemická reakcia uvedená na obr. 1.

Z hľadiska základných poznatkov teórie svetla a farby najmenej stále sú žlté farby a naopak, najstabilnejšie sú azú-



Obr. 1. Redukcia ketónovej dvojitej väzby vedúca k porušeniu konjugácie s následkom modifikácie farebného vjemu

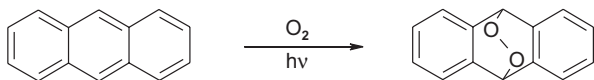
rové. Je však nutné podotknúť, že svetlostálosť sa mení aj v závislosti od druhu pigmentu vo farbe. Práve na základe chemickej povahy pigmentu a jeho reakcie na svetlo by bolo možné sledovať chemické mechanizmy blednutia farieb. Problémom však je, že výrobcovia tlačových farieb neudávajú chemické zloženie, ale len svetlostálosť farby. Všeobecne platí, že stabilnejšie pigmenty sú tie, ktoré obsahujú menej skupín schopných oxidácie (OH), obsahujú skupiny neschopné hydrolyzy ( $\text{NH}_2$ ), neobsahujú karbonylové skupiny na aromatickom jadre, majú menej sulfátových a iných funkčných skupín schopných prenosu náboja ( $\text{NH}_3^+$ ,  $\text{COO}^-$ ), neobsahujú chinónové štruktúry, príp. obsahujú aj stabilizujúce skupiny ( $\text{NO}_2$ ) (cit.<sup>14</sup>).

Veľký význam má prítomnosť kyslíka pri fotochemicky iniciovaných reakciách vedúcich k porušeniu aromatických, resp. konjugovaných systémov<sup>15</sup>. Tieto reakcie je možné ilustrovať na príklade oxidácie antracénu, ktorý pri expozícii konštantnému svetelnému toku vytvára za prítomnosti aktívneho kyslíka endoperoxidy (obr. 2). Tento kyslík, ak sa dostane do tesnej blízkosti chromofórového systému, spôsobuje transfer elektrónov z excitovaného chromofórového systému (napr. ďalšia molekula antracénu), príp. radikálového systému (napr. prostredie, ktoré obklopuje pigment)<sup>16</sup>.

Ďalšie zložky prítomné v tlačovej farbe sú tiež schopné ovplyvniť stratu celistvosti pigmentovej štruktúry v závislosti od ich schopnosti iniciovať, resp. podporovať zmienené fotochemické reakcie. Väčšina pigmentov je dispergovaná v spojivách, ktoré zabezpečujú rovnomerný nános tlačovej farby na substrát, viazanie na materiál a schnutie, ale zároveň vytvárajú prostredie vhodné pre acidobázické, radikálové a autooxidačné reakcie, resp. vstupujú do procesu oxidačnej polymerizácie, čo môže byť ďalším zdrojom radikálov vstupujúcich do oxidačných reakcií štruktúr pigmentu. Napr. významná zložka živice – kyselina abietová – môže senzibilizovať oxidáciu susednej molekuly pigmentu<sup>17</sup>.

V digitálnej tlači sa používajú odlišné druhy spojív ako v klasických tlačových technikách. Tonery obsahujú 5–10 hm.% pigmentu, častice ktorého sú obalené termoplastami s bodom topenia 50–120 °C a slúžia aj ako tavivé lepidlá (polyester, polystyren/polymetakrylát, polybutylakrylát) (cit.<sup>18</sup>). Atramenty zas obsahujú odlišné komponenty vplývajúce na kvalitu a stálosť filmu: azofarbivá, organické rozpúšťadlá, vodu, zosilňovač farby, povrchovo aktívne látky udržiavajúce vlhkosť a rovnomernú tvorbu kvapiek počas transportu, komplexotvorné látky a elektrolyty<sup>19,20</sup>. Všetky spomínané látky sa podieľajú na optických vlastnostiach finálneho výrobku a môžu značne ovplyvniť jeho celkovú svetlostálosť.

Aj látky tvoriace prijímaciu vrstvu potláčaného materiálu majú tendencie reagovať s molekulami farbiva v excitovanom stave, čo môže mať za následok urýchlenie blednutia vzorky alebo farebný posun. Z toho vyplýva, že aj výber vhodnej kombinácie farby a média je jedným z faktorov, ktoré vplývajú na stabilitu tlačeného obrazu<sup>21</sup>.



Obr. 2. Vznik endoperoxidu z antracénu pôsobením kyslíka a UV žiarenia

### 2.3. Vzájomné interakcie

Je všeobecne známe, že farba sa viaže na povrchu papiera, resp. pod jeho povrchom prevažne fyzikálno-mechanickými silami. Pri pozorovaní dejov odstraňovania farby z papiera sa ale zistilo, že tento proces je tým obtiažnejší, čím je dlhší čas, ktorý uplynie od zhotovenia výtlačku. Tak vzniklo podozrenie, že medzi farbou a papierom ako potláčaným materiálom sa tvoria aj chemické väzby. Bolo zistené<sup>23</sup>, že pri použití farieb obsahujúcich rastlinné oleje (prevažne sójový a ľanový), sa skutočne tvoria kovalentné väzby s celulózou v dôsledku oxidačnej polymerizácie. Takéto farby sa najčastejšie používajú v hárkovom a heatsetovom ofsete a pri novinovej tlači.

### 2.4. Vonkajšie podmienky

Vysoká teplota podporuje zvýšený pohyb molekúl, ktoré tak prichádzajú navzájom do kontaktu, a tým sa zvyšuje ich reakčný potenciál. Zároveň zvýšená relatívna vlhkosť vytvára podmienky vhodné pre urýchlenie reakcií vedúcich k porušeniu pôvodných chromofórových štruktúr prítomného farbiva. Na druhej strane pri nízkych teplotách môže dochádzať ku krehnutiu plastických materiálov a k rozmerovým zmenám, pri ktorých vzniká pnutie medzi podložkou a náterom, a tým sa zvyšuje riziko prasknutia jednej z vrstiev.

Plynné látky v atmosfére ako ozón, peroxidy a exhaláty atakujú molekuly farbív na dvojitych väzbách, ktoré sú zodpovedné za charakter farebného vnemu. Kyslík vo vzduchu môže prijímať energiu z excitácie farbiva a v tom prípade vzniká chemicky agresívny singletový kyslík, silný oxidant, ktorý má schopnosť trhať dvojité väzby, a tak rozkladať, alebo skracovať konjugované systémy.

Ďalším faktorom je samotné svetlo, s ktorým tlačená informácia prichádza do styku. Keďže grafické zobrazenie môže byť umiestnené v interiéri i exteriéri, jeho kvalita v čase bude závisieť od typu, intenzity a spektrálnej charakteristiky použitého svetelného zdroja.

Vonkajšie podmienky priaznivé pre existenciu a rozmnožovanie mikroorganizmov zvyšujú aj pravdepodobnosť biologickej kontaminácie papiera, ktorá je tiež jednou z možných ciest deštrukcie papiera a tlačovín a je samostatnou kapitolou výskumu reštaurátorských a konzervátorských pracovísk.

## 3. Metódy používané pri sledovaní stability grafických zobrazení

### 3.1. Metódy starnutia

Vystavenie nepotlačeného a potlačeného papiera škodlivému prostrediu, ako sú niektoré typy žiarenia, zvýšená teplota, príp. pôsobenie znečistenej atmosféry za určitý čas, poskytuje informácie o možných zmenách v materiáli v priebehu niekoľkých rokov.

#### Urýchlené tepelné starnutie

Metodika urýchleného starnutia pôsobením tepla je predmetom normy STN ISO 5630 (cit.<sup>22</sup>), ktorá stanovuje 4 možnosti kombinácií teploty a relatívnej vlhkosti:

- 1) pôsobenie tepla za sucha pri teplote 105 °C,
- 2) pôsobenie tepla za vlhka pri teplote 90 °C a 25% relatívnej vlhkosti,
- 3) pôsobenie tepla za vlhka pri teplote 80 °C a 65% relatívnej vlhkosti,
- 4) pôsobenie tepla za sucha pri teplotách 120 °C alebo 150 °C.

#### Svetelné starnutie

Metódy svetelného starnutia v princípe možno rozdeliť na priame a nepriame. Priame využívajú na expozíciu vzoriek prirodzený zdroj svetla. Tzv. „indoor“ alebo „office“ osvetlenie je tvorené bežným žiarovkovým osvetlením (s nižšou farebnou teplotou). Pri tzv. „outdoor“ osvetlení sú vzorky vystavené priamemu slnečnému svetlu v exteriéri. Výhoda spočíva v tom, že nie je potrebné simulovať podmienky starnutia, avšak sme odkázaní na jasné a slnečné počasie. Je tiež nereálne vykonávať priame expozície pri dlhodobých štúdiách, kedy sa sledujú vlastnosti po 10 a viac rokoch. Nepriame metódy (tzv. urýchlené) využívajú na expozíciu vzoriek umelé zdroje svetla. V tomto prípade treba simulovať vonkajšie podmienky starnutia intenzívnym osvetlením blízkym slnečnému, so zodpovedajúcou teplotou a relatívnou vlhkosťou. Metodikou urýchleného svetelného starnutia sa zaoberajú normy, uvedené v zozname literatúry<sup>23–28</sup>.

Podstatou väčšiny skúšok je vystavenie vzorky pôsobeniu umelého svetla (xenónovej výbojky) spoločne so súpravou modrých vlnených štandardov za predpísaných podmienok (teplota, vlhkosť, dĺžka expozície, rovnomerné otáčanie vzoriek). Stálofarebnosť na svetle sa hodnotí porovnaním zmeny odtieňa vzorky so zmenou odtieňa použitých štandardov v stupnici 1 až 8.

### 3.2. Metódy hodnotenia zmien

#### Papier

Norma STN ISO 5630 (cit.<sup>22</sup>) doporučuje na sledovanie zmien vplyvom tepla a svetla tieto typické vlastnosti: odolnosť voči ohybu (najcitlivejší indikátor narušenia papiera), pevnosť v ťahu, pevnosť v dotrhnutí, pevnosť v prietlaku, z chemických vlastností stanovenie pH a rozpustnosti v lúhoch a z optických vlastností stanovenie difúzneho činiteľa odrazu<sup>29</sup>. Ďalšími meniacimi sa parametrami v priebehu starnutia môžu byť hladkosť povrchu, alkalická rezerva, číslo Kappa, meďné číslo, limitné viskozitné číslo buničiny v roztoku, relatívne dekolračné číslo, resp. celková farebná odchýlka od pôvodnej vzorky<sup>29</sup>. Tieto mechanické, optické, chemické a fyzikálne vlastnosti sú kvalitatívnymi ukazovateľmi akosti papiera a ich zmeny môžu indikovať správanie sa papiera v čase jeho starnutia, ako je to dokumentované na obr. 3. Počet dvojohybov je veličina udávajúca odolnosť pri prehybaní a definuje sa ako schopnosť papiera znášať opakované prehybanie vo forme dvojohybov o 180° za určených podmienok až do porušenia v mieste prehybania<sup>30</sup>. Stupeň belosti  $W_{CIE}$  (označovaný tiež ako jasnosť) udáva belosť opticky zjasnených papierov a je súčtom belosti samotnej buničiny (vzhľadom k bielému štandardu MgO), optických zjasňovacích prostriedkov a pomocných látok pridávaných do papiera počas technologických operácií zušľachtovania. Závislosti týchto veličín od času urýchleného svetelného starnutia na obr. 3 sú namerané pre

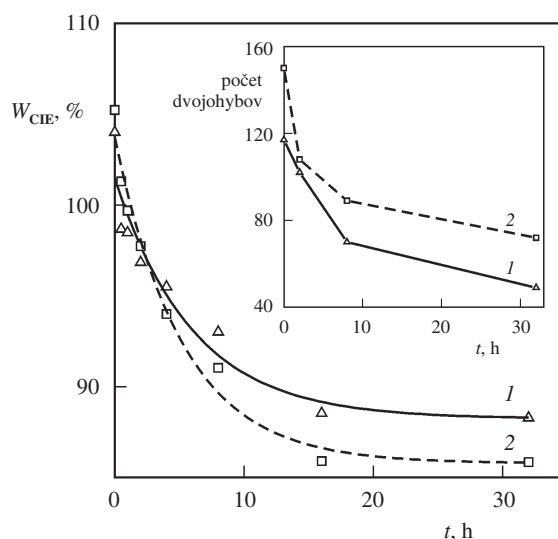
dva rôzne papiere s hmotnosťou 80 g/m<sup>2</sup> bežne používané pri zhotovovaní grafických obrazov. Z ich priebehu je zrejмый výrazný pokles sledovaných parametrov od samého začiatku expozície.

#### Farebný výtlačok

Pokiaľ je tlač určená iba na čítanie, nie je potrebné požadovať vysokú svetlostálosť, pretože k pohodlnému čítaniu stačí pomerne slabé osvetlenie a výtlačky nie sú vystavované intenzívnemu osvetleniu. Vyššie požiadavky na svetlostálosť vyžadujú produkty, ktoré sú trvalo vystavované intenzívnemu žiareniu, ako sú napr. plagáty vo výkladoch, na informačných tabuliach alebo billboardy. V týchto prípadoch sa vyžaduje najmenej 5. stupeň podľa medzinárodnej stupnice pre hodnotenie svetlostálosti. To znamená, že pri priemernom dennom osvetlení (priemer z celého roka) sa môže prvá zmena na farebnom filme objaviť najskôr po 40 dňoch expozície, čitateľnosť textu musí byť zaručená po dobu najmenej 100 dní (cit.<sup>31</sup>).

Na farebnom výtlačku je možné sledovať zmeny v tzv. chromatických a achromatických parametroch. Ku chromatickým patria:

- spektrálne odrazové charakteristiky plných, prípadne poltónových plôch<sup>32</sup>,
- súradnice farebného priestoru CIE L\* a\* b\* a celková farebná odchýlka  $\Delta E_{ab}^*$ . Farebný priestor CIE L\* a\* b\* je trojrozmerný priestor, v ktorom každej farbe môžeme priradiť súradnice: na osi x je to súradnica *a* červeno-zelenej farby, na osi y je to súradnica *b* modro-žltej farby a kolmo na túto rovinu ide súradnica svetlosti *L*. Rozdiel dvoch farieb v tomto priestore je geometricky daný úsečkou spájajúcou dva rôzne body. Čím je väčšia farebná odchýlka, tým sú farby rozdielnejšie, tým je kvalita horšia (podrobnejšie vysvetlenie v cit.<sup>32</sup>),
- optická farebná hustota (denzita) jednotlivých farieb<sup>32</sup>.



Obr. 3. Závislosť optických vlastností, reprezentovaných parametrom jasnosti ( $W_{CIE}$ ), resp. mechanických vlastností – počtu dvojohybov od času expozície (strednotlaková Hg-výbojka) pre ofsetový (1) a univerzálny kancelársky (2) papier

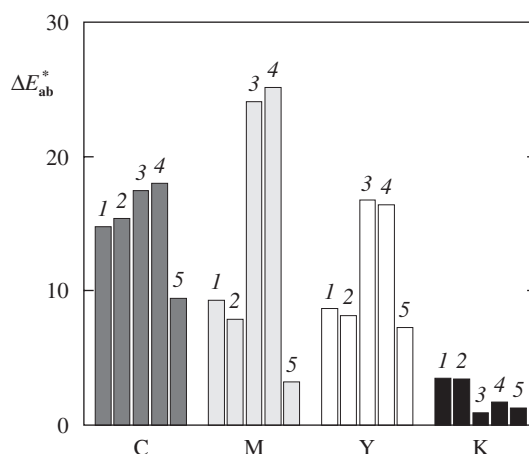
Tabuľka I

Hodnotenie farebného vnemu podľa  $\Delta E_{ab}^*$ 

$\Delta E_{ab}^*$	Hodnotenie farebného vnemu
0–2	farebná zhoda
2–4	prijateľný farebný rozdiel pri priamom porovnaní
4–8	prijateľný farebný rozdiel pri nepriamom porovnaní
8 a viac	výrazný farebný rozdiel – farebná nezhoda

Na základe získaných hodnôt dostávame informáciu o zmene kolorimetrických vlastností sledovanej vzorky, resp. farebnej zhode alebo nezhode. Na obr. 4 sú zobrazené stĺpcové diagramy dávajúce do vzťahu celkovú farebnú odchýlku (od pôvodnej natlačenej farby) a čas urýchleného svetelného starnutia rôznymi svetelnými zdrojmi. Z obrázku možno posúdiť stabilitu jednotlivých tlačových farieb – azúrovej (cyan C), purpurovej (magenta M), žltej (yellow Y) a čiernej (K) a taktiež vplyv rôzneho osvetlenia na sledované vzorky. Žiaden medzinárodný predpis neurčuje presne požadované dosiahnuté hodnoty  $\Delta E_{ab}^*$  v čase starnutia, tie sa stanovujú podľa účelu použitia a interných skúseností. Tabuľka I udáva možné začlenenie vzorky podľa dosiahnutej zmeny celkovej farebnej diferencie<sup>32</sup>.

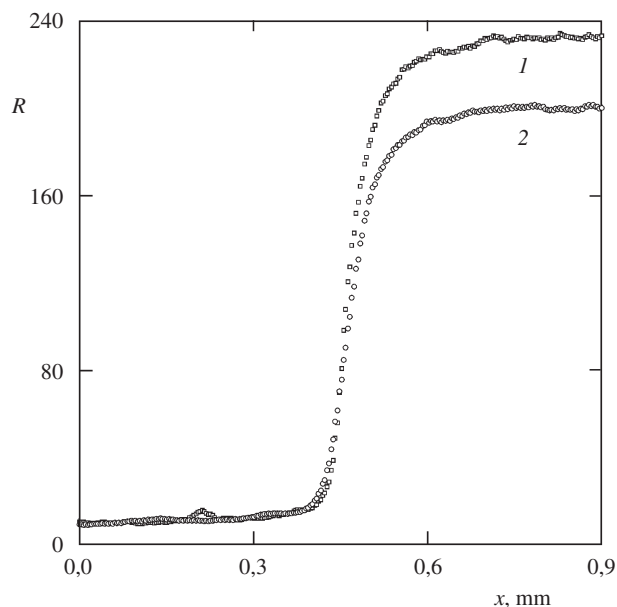
Achromatické parametre tlačenej farby súvisia najmä s čitateľnosťou (napríklad textu). Okrajová zóna tlačového bodu je niekoľko  $\mu\text{m}$  a hrúbka farby klesá so vzdialenosťou od jeho stredu. Pri expozícii síce dané farbivo alebo pigment bledne rovnako, ale najviac sa to prejavuje práve na okrajovej zóne tlačového bodu. Tento jav môže ľudské oko vnímať ako zníženie plošného krytia, hrnovej ostrosti a v neposlednom



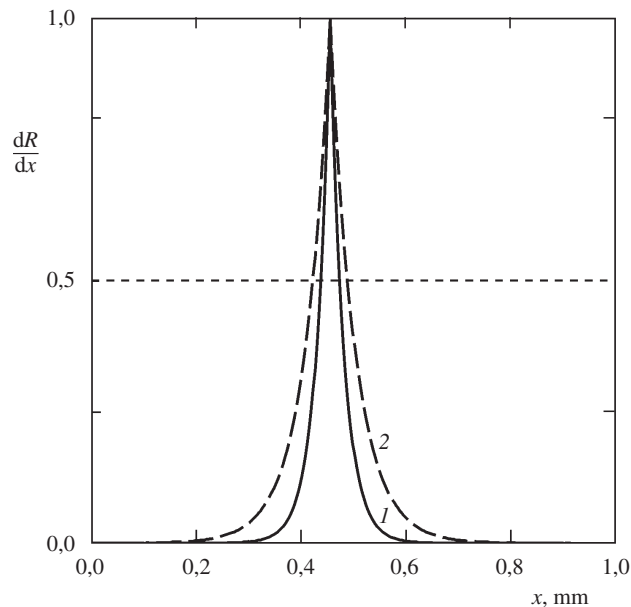
Obr. 4. Zmeny  $\Delta E_{ab}^*$  v závislosti od času expozície rôznymi svetelnými zdrojmi; 1 – 5 h, 2 – 15 h, 3 – 30 h expozície v klimatizovanom boxe simulujúcom denné svetlo pomocou metalhalogenidových a fluorescenčných výbojok, 4 – 48 h expozícia xenónovou lampou, 5 – 80 h expozícia v podmienkach kancelárskeho osvetlenia pre farby cyan (C), magenta (M), yellow (Y) a black (K) vytlačené nátlakovacím systémom Matchprint digital

rade aj rozlíšenia. Preto pri každom skúmaní starnutia by mali vzorky obsahovať nielen prvky na vyhodnotenie kolorimetrických, ale aj nekolorimetrických vlastností. Napr. na obr. 5a je znázornená funkcia popisujúca ostrosť prechodu vytvorenej farebnej hrany (oblasť vysokých hodnôt  $R$ , kde  $R$  je odozva – response prvku CCD kamery) na bielom papieri (oblasť veľmi nízkych hodnôt  $R$ ). Z porovnania kriviek pred a po starnutí je zrejmé, že sledovaná hrana farby mení svoju ostrosť tak, ako

a



b



Obr. 5. Parametre ostrosti hrán čiernej farby (Matchprint digital) referenčnej (1) a svetelne exponovanej (30 h v boxe simulujúcom denné svetlo) vzorky (2);  $R = f(x)$  (ESF, funkcia rozšírenia hrany),  $dR/dx = g(x)$  (LSF, aproximatívna funkcia rozšírenia čiary)

sa mení sklon krivky 2, a takisto z oblasti farieb je viditeľné jej blednutie. Deriváciou tejto funkcie dostávame funkciu rozšírenia hrany, z ktorej možno vyčítať zmenu geometrického rozmeru rozhrania papier – farba (neostrosť rozhrania) v bode zodpovedajúcom hodnote  $dR/dx = 0,5$ .

*Táto práca bola podporená slovenskou grantovou agentúrou VEGA (č. grantu 1/6156/99 a 9145/02).*

## LITERATÚRA

- Hue P. L.: *J. Imaging Sci. Technol.* 42, 49 (1998).
- Krkoška P.: *Vlastnosti papiera a lepenky, seminár organizovaný VÚPC Bratislava, október 1996, zborník prednášok*, str. 1.
- ISO 9706: *Information and documentation – Paper for documents – Requirements for permanence and durability* (1997).
- Kastaly B.: *Papiripar* 39, 211 (1995); *Chem. Abstr.* 124, R 205 256.
- Heitner C., Scanio J. C.: *Photochemistry of Lignocellulosic Materials*, str. 2. American Chemical Society, Washington D.C. 1993.
- Chirat C., De la Chapelle V.: *J. Pulp Pap. Sci.* 25, 201 (1999).
- Beyer M., Lind A., Koch H., Fischer K.: *J. Pulp Pap. Sci.* 25, 47 (1999).
- Hanus J.: *Pap. Cel.* 40, 77 (1985).
- Kučera J., Krkoška P., Matton P.: *Pap. Cel.* 37, 99 (1982).
- Vizárová K., Soldán M.: *51. zjazd chemických spoločností, Nitra, 6.–9. september 1999, zborník príspevkov, zv. 3, E–P5*. Vydavateľstvo STU, ISBN 80-227-1250-7.
- Forsskahl I., Tylli H., Olkkonen C.: *J. Pulp Pap. Sci.* 26, 245 (2000).
- Havermans J. B., Dufour J.: *Restaurator* 18, 103 (1997).
- Lapčík L., Pelikán P., Čeppan M.: *Fotochemické procesy*. Alfa, Bratislava 1989.
- Pratt L. S.: *The Chemistry and Physics of Organic Pigments*. Wiley, London 1947.
- Liaohai C., Lucian L., Gaillard E. R., Icli H., Icli S., Whitten D. G.: *J. Phys. Chem. A* 102, 9095 (1998).
- Ragauskas A. J., Lucia L. A.: *Am. Ink Mak.* 119, 52 (1998).
- Dyer J. W.: *Am. Ink Mak.* 48, 57 (1970).
- Le P.-C., Potts M., Hoffer H. H.: *PTS Symposium: Chemical Technology of Papermaking, München 1998, Proceedings of Symposium* (Weigl J., Wilken R., ed.), str. 43-1.
- Ruf F.: *PTS Symposium: Papermaking and Testing of Special Papers, München 1996, Proceedings of Symposium* (Weigl J., Wilken R., ed.), str. 14-1.
- Glitteberg D., Hemmes J. L.: prednesené na *Münchner Papiersymposium, München, 27.–29. March 1996*.
- Jürgens M. C.: *An Investigation for the Capstone Project, Cross-Disciplinary Studies at Rochester Institute of Technology, Rochester, 27. August 1999*, www.know.nl/ccpa/jurgens.html; marec 2001.
- STN ISO 5630: *Papier a lepenka. Urýchlené starnutie* (1996).
- ISO 12 040: *Prints and printing inks. Assessment of light fastness using filtered xenon arc light* (1997).
- ISO 2835: *Prints and printing inks. Assessment of light fastness* (1999).
- STN ISO 105-B02: *Tests for color fastness. Color fastness to artificial light. Xenon arc fading lamp test* (1997).
- ISO 10 977: *Photography – Processed photographic colour films and paper print – Methods for measuring image stability* (1993).
- ISO 2834: *Test print preparation for offset and letterpress inks* (1999).
- DIN 75 220: *Ageing of automobile components in solar simulation units* (1992).
- Souček M.: *Zkoušení papíru*. SNTL, Praha 1977.
- Lébr F., Adámková G., Kolda S.: *Zkušebníctví*. VŠCHT, Pardubice 1983.
- Gondek R.: *Informační servis pro polygrafii IX*, 2 (2000).
- Panáč J., Čeppan M., Dvonka V., Karpinský L., Kordoš P., Mikula M., Jakucewicz S.: *Polygrafické minimum*. Typoset, Bratislava 2000.

**M. Reháková, M. Mikula, M. Čeppan, and B. Malec**  
(Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak Technical University, Bratislava, Slovak Republic): **The Aging Process and Evaluation of Stability of Graphic Pictures**

The article gives an overview of physicochemical processes occurring in the course of aging of graphic pictures. The multicomponent materials constituting the pictures consist of carriers and picture-forming systems. Depending on the composition of the materials, various mechanisms of loss of original properties can operate. The accelerated aging methods used for assessment of the stability of the materials are discussed.

# PREHĽAD ANALYTICKÝCH METÓD NA STANOVENIE POLYÉTEROVÝCH ANTIBIOTÍK

MILOŠ BLAZSEK

Úsek výskumu a vývoja, Biotika a.s., 976 13 Slovenská Lupča, Slovenská republika  
e-mail: blazsek@biotika.sk

Došlo 26.10.01, prepracované 25.4.02, prijaté 25.9.02.

Kľúčové slová: prehľad, polyéterové antibiotiká, salinomycín, narazín, monenzín, lasalocid, analytické stanovenie, mikrobiologické stanovenie, spektrofotometria, kvapalinová chromatografia, TLC, HPLC, ELISA

## Obsah

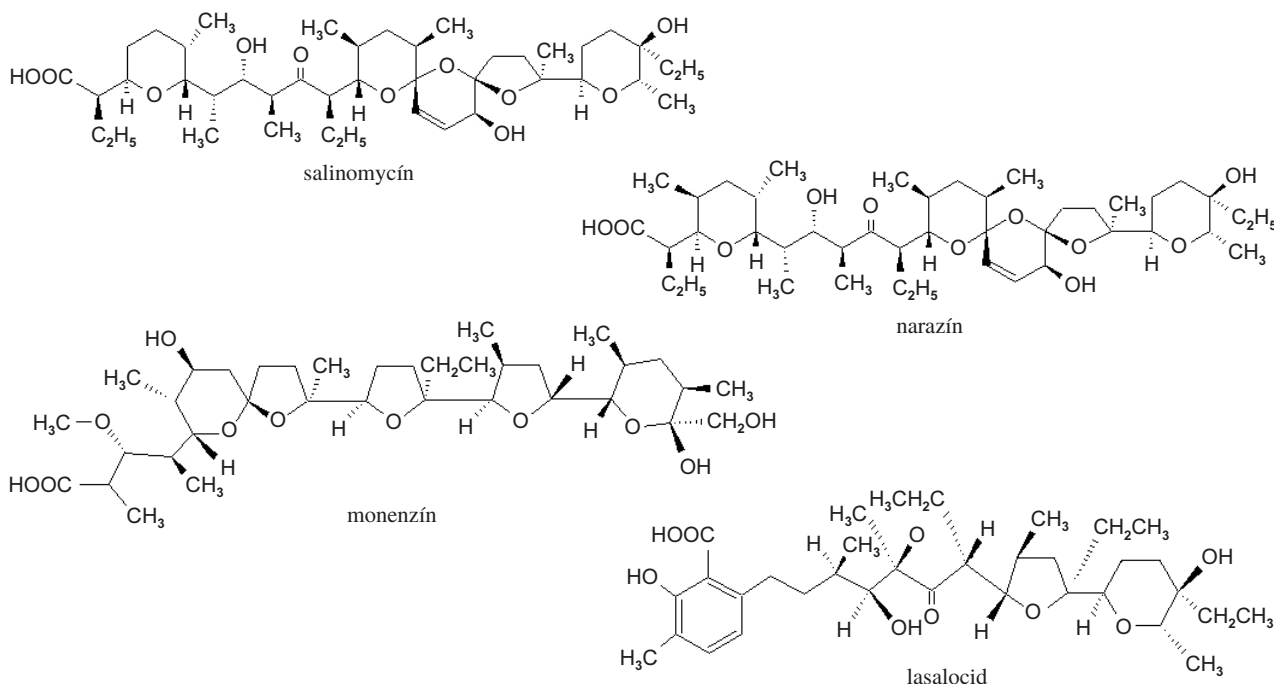
1. Úvod
2. Mikrobiologické stanovenie
3. Spektrofotometrické stanovenie
4. Tenkovrstvová chromatografia (TLC)
5. Vysokoučinná kvapalinová chromatografia (HPLC)
  - 5.1. HPLC s pokolónovou derivatizáciou
  - 5.2. HPLC s predkolónovou derivatizáciou
  - 5.3. HPLC s hmotnostnou detekciou
6. Imunochemické metódy – ELISA
7. Záver

## 1. Úvod

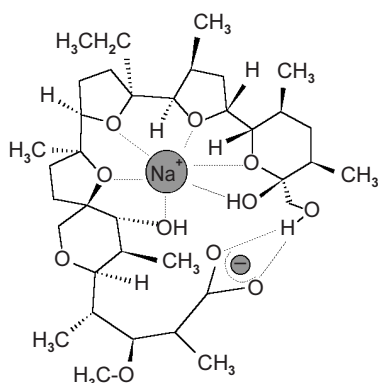
Salinomycín, narazín, monenzín a lasalocid (obr. 1) patria medzi polyéterové antibiotiká (PA), ktoré reprezentujú významnú skupinu ionofórnych zlúčenín, produkovaných kmeňmi *Streptomyces*.

Ich antimikrobiálne vlastnosti sa využívajú vo veterinárnej praxi pri liečbe a prevencii kokcidiózy u hydiny a tiež pôsobia ako stimulátory rastu u dobytky. Ako ich pomenovanie napovedá, základom chemickej štruktúry týchto zlúčenín sú cyklické éterové skupiny: tetrahydrofuranové a tetrahydropyránové kruhy, ktoré sú navzájom spojené uhlíkovým reťazcom, priamou C–C väzbou, alebo spoločným článkom – spiroatómom. Spoločnou vlastnosťou PA je prítomnosť voľnej karboxylovej skupiny na konci molekuly, prevládajúci počet naviazaných nepolárnych etyl- a metylskupín, ako aj prítomnosť polárnych kyslíkových skupín, umožňujúcich vznik elektroneutrálnych pseudo-makrocyclických komplexov s monovalentnými a divalentnými kationmi. Komplexy sú tvorené intramolekulovou vodíkovou väzbou medzi karboxylovou skupinou na jednom konci a hydroxylovou skupinou na druhom konci molekuly (obr. 2).

Väčšina PA sú biele kryštalické zlúčeniny s molovými hmotnosťami v rozmedzí 600 až 900 a s teplotami topenia okolo 100–120 °C (cit.<sup>1</sup>). Z chemickeho hľadiska ich možno zaradiť medzi slabé karboxylové kyseliny s lipofilnými vlastnosťami. Sú nerozpustné vo vode, ale rozpustné vo väčšine organických rozpúšťadiel. Ich soli vykazujú podobnú rozpustnosť ako voľné kyseliny.



Obr. 1. Chemická štruktúra karboxylových polyéterových antibiotík



Obr. 2. Schématické zobrazenie štruktúry sodného komplexu monenzínu

Tabuľka I

Toxicita polyéterových antibiotík (v mg.kg<sup>-1</sup> váhy zvierafa) podľa Amerického výboru pre veterinárnu toxikológiu

Antibiotikum	Toxicita			
	kone	hovädzí dobytok	ovce	kuratá
Monenzín	2–3	20–80	12	200
Salinomycín	0,6	–	–	44,3
Lasalocid	21,5	50–150	75–350	71,5

Polyéterové antibiotiká sú charakteristické biologickou aktivitou proti baktériám kmeňa *kokcidia* (druh protozoa baktérii), ktoré parazitujú na epiteliálnych bunkách zažívacieho traktu vtákov a cicavcov<sup>1</sup>. Príčinou biologickej aktivity PA sú ich iónofórne vlastnosti, to znamená schopnosť vytvárať s iónmi alkalických kovov voľné komplexy, ktoré potom môžu prenášať cez bunkové steny baktérii, a tak narušovať rovnováhu medzi vonkajším prostredím a vnútorom bunky.

Príprava a vlastnosti prvých polyéterových antibiotík boli popísané už v 50. rokoch 20. storočia (nigericín). V súčasnosti sa odhaduje, že bolo pripravených asi 80 rôznych polyéterových antibiotík, z ktorých však len malé množstvo našlo praktické uplatnenie pri liečbach chorôb hospodárskych zvierat. Medzi komerčne najvýznamnejšie patrí: salinomycín, monenzín, narazín a lasalocid. Z týchto antibiotík salinomycín a monenzín majú v súčasnosti až 65–75 % podiel na celosvetovej spotrebe polyéterových antibiotík. Väčšina PA je pripravovaná fermentačným procesom, salinomycín je produkovaný kultúrou *Streptomyces albus* a monenzín kultúrou *Streptomyces cinnamonensis*. Do medikovaných krmných zmesí sa pridávajú na koncentračnej úrovni 60–120 mg.kg<sup>-1</sup>. Určité obmedzenie klinického používania PA je spôsobené ich toxickými vlastnosťami (hodnota LD<sub>50</sub> sa pohybuje v rozmedzí 1–60 mg.kg<sup>-1</sup>). V tabuľke I sú uvedené toxické koncentrácie monenzínu, salinomycínu a lasalocidu pre kone, dobytok, ovce a kuratá podľa Amerického výboru pre veterinárnu toxikológiu<sup>2</sup>.

Salinomycín je už v malej koncentrácii toxický pre kone

a morky, a negatívne ovplyvňuje rast hydiny<sup>3</sup> pri koncentráciách vyšších ako 100 mg.kg<sup>-1</sup>. Z tohoto hľadiska je prirodzená potreba identifikácie a kvantitatívneho stanovenia polyéterových antibiotík v medikovaných krmivách.

V dostupnej literatúre je popísaný pomerne veľký počet biologických a chemických analytických metód pre stanovenie komerčne používaných polyéterových antibiotík. Najčastejšími aplikáciami je analýza PA vo veterinárnych produktoch, krmných zmesiach a premixoch krmných zmesí. Presné stanovenie obsahu v týchto zmesiach je dôležité vzhľadom na spomenuté toxické účinky vyšších koncentrácií PA. Na druhej strane nadmerné používanie PA môže viesť nielen k vzniku bakteriálne rezistentných kmeňov, ale aj k environmentálnemu znečisteniu v podobe ich reziduí v živočíšnych produktoch. Možno preto očakávať stupňujúci sa tlak kontrolných úradov na sledovanie reziduí PA v spotrebných produktoch. Napríklad v súčasnosti je v Japonsku stanovený maximálny povolený limit 0,05 µg salinomycínu v jednom grame živočíšneho tkaniva<sup>4</sup>. V poslednej dobe sa aj z tohto dôvodu stále viac publikovaných prác zameriava práve na riešenie problémov spoľahlivej analýzy reziduí PA v živočíšnych produktoch (v mäse, pečeni, vajciach, mlieku, krvnej plazme a podobne).

## 2. Mikrobiologické stanovenie

Mikrobiologické stanovenie predstavuje pôvodnú, historicky najstaršiu metódu stanovenia PA. Biologická účinnosť antibiotika sa stanovuje porovnaním inhibície rastu citlivých mikroorganizmov spôsobenej známymi koncentraciami testovaného antibiotika v analyzovanej vzorke. Stanovenie sa vykonáva difúznou, alebo turbidimetrickou metódou. Pri stanovení PA difúznou platňovou metódou sa používa kmeň *Bacillus subtilis*. V tomto prípade sa účinnosť antibiotika vyhodnocuje na základe priemerov inhibičných zón na platni s naočkovanou živnou pôdou<sup>5</sup>. Princípom turbidimetrickej metódy je zase sledovanie zákalu naočkovanej živnej pôdy po určitom čase inkubácie. Pri stanovení PA sa používa kmeň *Streptococcus faecalis*<sup>6</sup>. Hoci sa mikrobiologické stanovenia vyznačujú množstvom nedostatkov (nízkou selektivitou, prácnosťou, dlhým časom analýz) stále patria medzi metódy stanovenia účinnosti mnohých komerčne používaných PA v krmivách požadované štátnymi autoritami a sú uvedené medzi metódami AOAC, ale aj napríklad vo Vestníku Ministerstva pôdohospodárstva SR (cit.<sup>7</sup>). Postupom času sú nahrádzané modernejšími metódami poskytujúcimi spoľahlivejšie výsledky za kratší čas (napr. kvapalinová chromatografia).

## 3. Spektrofotometrické stanovenie

Spektrofotometrické stanovenie monenzínu bolo Golabom a spol.<sup>8</sup> navrhnuté ako náhrada mikrobiologického stanovenia. Metóda je založená na chemickej reakcii monenzínu s vanilínom (4-hydroxy-3-metoxibenaldehyd) v kyslom prostredí za vzniku intenzívne sfarbeného produktu ( $\lambda_{\max} = 520$  nm). Táto farebná reakcia je označovaná ako Komarovského a obecné ide o reakciu vyšších alkoholov s aromatickými aldehydmi za vzniku farebných aldolových kondenzačných produktov. Pri stanovení autori<sup>8</sup> použili 3% metanolový roztok vanilínu

okyslený kyselinou sírovou. Analyt extrahovali zo vzoriek kŕmnych zmesí, premixov a fermentačných pôd do metanolu. Autori popisujú dobrú koreláciu nameraných hodnôt s mikrobiologickým stanovením. Minimálny limit stanovenia monenzínu je uvedený na úrovni  $1 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ .

Spektrofotometrické stanovenie salinomycínu v kŕmnych zmesiach je uvedené vo Vestníku ministerstva pôdohospodárstva SR (cit.<sup>7</sup>) ako alternatívna metóda mikrobiologického stanovenia. Spektrofotometrické stanovenie má oproti mikrobiologickým metódam výhodu predovšetkým vo svojej rýchlosti, no taktiež ako mikrobiologické stanovenie má nízku špecifickosť, takže nie je vhodné pri analýzach vzoriek, ktoré obsahujú viacero PA. V tomto prípade je potrebné použitie selektívnejších techník.

#### 4. Tenkovrstvová chromatografia (TLC)

Technika TLC predstavuje rýchlu a selektívnu možnosť identifikácie a semikvantitatívneho stanovenia PA a príbuzných látok v rôznorodých maticiach. Na ich detekciu sa využíva predovšetkým bioautografia a chemická reakcia s vanilínom poskytujúca farebný derivát. Martinez a Shimoda v roku 1983 použili techniku TLC na semikvantitatívne stanovenie monenzínu vo vzorkách kŕmív<sup>9</sup> a kuracej a hovädzej pečeni<sup>10</sup>. Príprava vzorky spočívala v extrakcii monenzínu do vodného roztoku metanolu (80 % v/v), ktorý bol následne čistený na kolóne naplnenej oxidom hlinitým (alumina). Analyt bol reextrahovaný do dichlórmetánu a prečistený na kolóne naplnenej Sephadexom LH-20. Takto pripravenú vzorku Martinez a Shimoda analyzovali na silikagélovej platni K-6 Whatman mobilnou fázou dichlórmetán–metanol (9:1). Použitím bioautografickej detekcie kmeňom *Bacillus subtilis* dosiahli detekčný limit  $10 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  (ppb). V tom istom období popísal poľský autor Karkocha TLC stanovenie monenzínu s vanilínovou detekciou v živočíšnych vzorkách, v mäse hydiny<sup>11</sup>, vo vajciach<sup>12</sup> a v mlieku<sup>13</sup>. Použitím dvojrozmernej elučnej techniky, keď silikagélovú platňu vyvíjal najprv zmesou chloroform:etanol:benzén (36:1:4) a následne etylacetátom, sa mu podarilo v týchto vzorkách detegovať monenzín na úrovni 4–5  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ . Simultánna detekcia prítomnosti monenzínu, narazínu, salinomycínu a lasalocidu na TLC platni s nanoseným oxidom hlinitým (alumina) vo vzorkách premixov a kŕmív je popísaná v práci Owlesa<sup>14</sup>. Bioautografickou detekciou (*Bacillus subtilis*) sa mu podarilo 10 násobne znížiť detekčný limit na hodnotu  $3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (ppm), porovnaním s detekciou pomocou vanilínového činidla ( $30 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Japonskí autori Asukabe a spol. publikovali v roku 1987 veľmi citlivé HPTLC stanovenie derivátov salinomycínu, monezínu a lasalocidu<sup>15</sup>. Fluorescenčne aktívne pyrénacyl estery polyéterových antibiotík pripravili pomocou 1-brómacetylpyrénu. Na separáciu esterov autori použili vysokoúčinné silikagélové a reverzné C18 fázy. Spôľahlivosť stanovenia zvýšili použitím interných štandardov, 18,19-dihydrosalinomycínu a 18,19-dihydro-20-ketosalinomycínu, ktoré boli synteticky pripravené zo salinomycínu. Fluorescenčná detekcia umožnila stanovenie antibiotík v rozsahu 2–14 ng, pričom hmotnostný detekčný limit antibiotík bol len 100 pg. Okrem uvedených detekčných spôsobov navrhli Blomkvist a spol. pri TLC stanovení monenzínu off-line detekciu hmotnostnou spektrometriou<sup>16</sup>. Po separácii vzorky na silikagélovej TLC platni izolovali škrvnu monenzí-

nu a analyt vymyli do metanolu. Antibiotikum ionizovali bombardovaním rýchlymi atómami xenonu s energiou 6 keV, pričom sa sledoval vznik iónov pri  $m/e = 693$  a  $694$ . Monenzín bol touto technikou stanovený na úrovni  $10 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ .

Také prednosti tenkovrstvovej chromatografie, ako sú rýchlosť a dostupnosť analýz, zabezpečili jej využívanie aj v súčasnosti, hlavne pri identifikácii a monitorovaní prítomnosti polyéterových antibiotík v kŕmivách<sup>17–19</sup> a živočíšnych tkanivách<sup>20</sup>. V roku 1998 Landgraf a Ross použili TLC metódu na dôkaz prítomnosti monenzínu vo vzorkách kŕmív určených pre kone<sup>17</sup>. Z metanolového extraktu kŕmiva monenzín reextrahovali do hexánu, a reextrakt prečistili na silikagélovej SPE kolónke. Prečistenú vzorku analyzovali na silikagélovej TLC platni, použitím etylacetátu, dichlórmetánu a amoniaku ako mobilnej fázy (17:3:0,5). Monenzín detegovali chemicky benzaldehydovými činidlami. Autori boli navrhnutým postupom schopní pozitívne dokázať prítomnosť monenzínu v kŕmivách s minimálnou koncentráciou  $10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , pričom so stanovením neinterferovalo 36 iných antibiotík. Detekčný limit na tejto úrovni prezentoval aj Gafner, ktorý ale prítomnosť salinomycínu, narazínu a monenzínu v kŕmivách a v kŕmnych premixoch detegoval bioautograficky, použitím kmeňa *Bacillus subtilis*<sup>18</sup>. Využitie TLC metódy pri sledovaní prítomnosti reziduí salinomycínu, monenzínu a lasalocidu vo vzorkách tkanív hydiny popísali vo svojej práci VanderKop a MacNeil<sup>20</sup>. Sledované antibiotiká extrahovali zo vzoriek tkaniva do metanolu a na prečistenie použili reextrakciu do chloridu uhličitého. Reextrakty analyzovali na silikagélovej platni s mobilnou fázou etylacetát:acetonitril (1:1). Antibiotiká detegovali bioautograficky kmeňom *Bacillus subtilis*. Uvedeným postupom sa im podarilo dokázať prítomnosť salinomycínu a lasalocidu na úrovni  $1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  a monenzínu  $0,45 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ .

Hlavné obmedzenie tenkovrstvovej chromatografie je predovšetkým v nízkej spoľahlivosti pri kvantifikácii analytov. Preto sa v prípade potreby presnej kvantifikácie používajú spoľahlivejšie metódy (napr. kolónová kvapalinová chromatografia).

#### 5. Vysokoúčinná kvapalinová chromatografia (HPLC)

Technika HPLC patrí v súčasnosti medzi najrozšírenejšie metódy používané na potvrdenie prítomnosti a kvantitatívne stanovenie polyéterových antibiotík v komplexných maticiach. Separácia sa väčšinou robí na analytických kolónach naplnených silikagélom s chemicky viazanou nepolárnou oktylovou (C8) alebo okta-decylovou skupinou (C18). Vzhľadom na lipofilný charakter PA sa pri analýzach používajú mobilné fázy s vysokým obsahom organickej zložky (>90 obj.% metanol, acetonitril). Keďže väčšina PA vo svojej štruktúre neobsahuje výrazné chromofóry ani elektrochemicky či fluorescenčne aktívne skupiny (okrem lasalocidu), na zvýšenie citlivosti detekcie sa používajú pred- alebo pokolónové derivatizačné reakcie. Cieľom využitia týchto reakcií je príprava derivátu s vyššou odozvou v UV alebo VIS oblasti, resp. derivátu s fluorescenčne aktívnou skupinou. Ďalším riešením je on-line spojenie kvapalinovej chromatografie s hmotnostnou spektrometriou (LC-MS). V niektorých typoch vzoriek bola odskúšaná aj priama detekcia antibiotík refraktometricky alebo



spektrofotometricky v UV oblasti pri nízkych vlnových dĺžkach (nešpecifická detekcia pri 200–220 nm). Refraktometrickú (RI) detekciu použili pri stanovení salinomycínu HPLC vo vzorkách krmív a biomasy *Dimenna* a spol.<sup>21</sup> Acetonitrilové extrakty vzoriek analyzovali na analytickej kolóne s reverznou fázou C8. Ako mobilnú fázu použili zmes acetonitrilu a vody okyslenej kyselinou fosforečnou (85:15). Analyzované vzorky obsahovali salinomycín na koncentračnej úrovni rádo vo  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . V roku 1993 porovnávali Beran a Zima priamu UV detekciu pri 210 nm s RI detekciou pri stanovení monenzínu HPLC v produkčných fermentačných pôdach kultúry *Streptomyces cinnamonensis*<sup>22</sup>. Na separáciu použili kolónu s reverznou fázou C18, analyty eluovali 88% metanolom. Priama UV detekcia sa za použitých podmienok ukázala málo vhodná, kvantitatívne stanovenie rušilo množstvo interferujúcich zložiek, ktoré mali absorbciu v sledovanej oblasti. Na druhej strane tieto látky mali nízku odozvu pri detekcii RI, čo umožnilo kvantitatívne stanovenie monenzínu A a monenzínu B. Koncentrácia monenzínu v stanovovaných vzorkách sa takisto pohybovala na úrovni  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , pričom detekčný limit metódy bol  $1\ \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ .

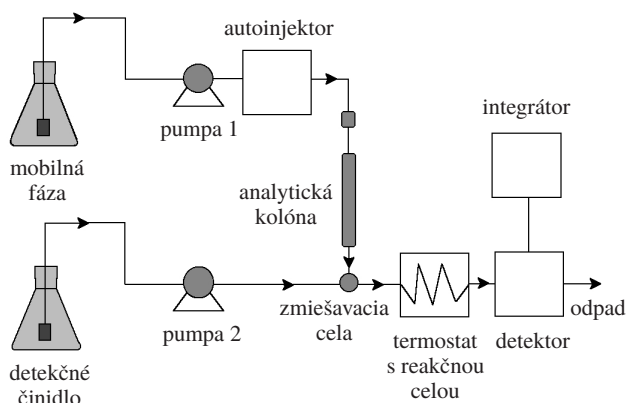
Hoci uvedené typy detekcie nenašli v súčasnosti širšie uplatnenie, predovšetkým kvôli ich nešpecifite a malej citlivosti, predstavujú jednoduchú alternatívu derivatizačných metód, predovšetkým pri analyzovaní vzoriek s vyšším obsahom PA.

### 5.1. HPLC s pokolónovou derivatizáciou

Pokolónová derivatizácia umožňuje zvýšenie citlivosti a špecificity detekcie analytov po ich separácii na analytickej kolóne. Oproti bežnej HPLC inštrumentácii si táto technika navyše vyžaduje samostatnú pumpu pre detekčné činidlo, zmiešavaciu komoru a temperovanú reakčnú celu (obr. 3).

Použitie pokolónovej derivatizácie pri stanovení salinomycínu HPLC v krmivách navrhli v roku 1984 Goras a Lacourse<sup>23</sup>. Analyty separovali na silikagélovej kolóne s použitím zmesi etylacetátu, izooktánu, kyseliny octovej a trietylamínu (75:25:0,4:0,2) ako mobilnej fázy. Pokolónové derivatizačné činidlo pozostávalo z etanolového vanilínového roztoku s prídavkom kyseliny sírovej. V prezentovanej práci je veľký priestor venovaný optimalizácii pokolónovej detekcie z hľadiska pomeru prietoku mobilnej fázy a vanilínového reagentu ako aj z hľadiska teploty reakčnej cely. Je preukázané, že so zvyšujúcim sa prietokom reakčného činidla odozva salinomycínu stúpala, až dosiahla maximum pri pomere prietokov mobilnej fázy a reakčného činidla 2:1. Ďalším zvyšovaním prietoku odozva klesala. Tento jav je pripísaný nepriaznivým pomerom koncentrácií činidla a analytu pri nižších prietokoch a skrátením pobytu reagentov v reakčnej cele, a tým aj času potrebného na ukončenie reakcie pri vyšších prietokoch. Podobná závislosť bola popísaná aj pri sledovaní vplyvu teploty reakčnej cely, keď maximálna odozva salinomycínu bola pri  $95\ ^\circ\text{C}$ . Pri nižších teplotách bola farebná reakcia nedokonalá a pri vyšších dochádzalo k rozkladu farebného produktu a tiež k splynutiu reakčnej zmesi. Autori za uvedených podmienok dokázali za 15 minút separovať salinomycín od príbuzných látok 20-deoxysalinomycínu a 20-oxosalinomycínu a monenzínu pri limite detekcie  $10\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ .

Na túto prácu nadviazali o rok neskôr Blanchflower a spol.<sup>24</sup>,



Obr. 3. Schéma HPLC prístroja s detekciou pokolónovou derivatizáciou

ktorí vo svojej práci využili pokolónovú detekciu pri HPLC stanovení monenzínu, narazínu a salinomycínu vo vzorkách krmív. Na rozdiel od predchádzajúcich autorov Blanchflower a spol. použili na separáciu analytov kolónu s reverznou fázou C18 a ako mobilnú fázu použili zmes metanolu, vody a kyseliny octovej (94:5,9:0,1). Sledované antibiotiká detegovali pri 520 nm. Pokolónová reakcia prebiehala pri  $70\ ^\circ\text{C}$  počas 2 minút, trvanie reakcie ale vzhľadom na rozmyvanie píkovo v dlhej pokolónovej reakčnej cele neskôr znížili na 1,1 minúty. Vyššiu citlivosť stanovenia autori dosiahli zvýšením koncentrácie vanilínu na  $100\ \text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  oproti  $30\ \text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  použitým Gorasom a Lacoursom. Vyššiu citlivosť dosiahli aj použitím vyššej koncentrácie kyseliny sírovej v detekčnom činidle; na druhej strane táto koncentrácia (40 ml koncentrovanej  $\text{H}_2\text{SO}_4$  na liter) rapídne znížila stabilitu reakčného činidla, preto sa autori vrátili k pôvodnej koncentrácii  $20\ \text{ml}\cdot\text{l}^{-1}$ . Okrem optimalizácie detekčných podmienok sa Blanchflower a spol. zamerali na optimalizovanie podmienok prípravy vzorky (extrakcia PA zo vzoriek krmív). Antibiotiká boli v analyzovaných krmivách prítomné v koncentráciách  $50\text{--}100\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Na ich extrakciu autori odskúšali nasledovné organické rozpúšťadlá: metanol, acetonitril, etanol, propanol, aceton a zmesi metanolu s vodou (50–90 % v/v). Najlepšie výsledky dosiahli použitím čistého a 90% roztoku metanolu, keď sa výtazky extrakcie uvedených analytov pohybovali v rozmedzí 98–100 %, resp. 96–100 %. Ako autori uvádzajú, danou metódou dosahovali spoľahlivé výsledky stanovenia PA v koncentračnom rozsahu  $0,5\text{--}125\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ .

Technika HPLC na reverzných fázach s pokolónovou derivatizáciou vanilínovým reagentom sa stala v 90. rokoch 20. storočia jednou z najpoužívanejších metód na stanovenie veterinárne používaných PA vo vzorkách produkčných fermentačných pôd<sup>25–27</sup>, krmív a premixov<sup>24,28–31</sup>. V prácach z tohto obdobia sú väčšinou uvedené optimalizácie separačných podmienok a podmienok pokolónovej reakcie z hľadiska aplikácie metódy na stanovované látky a druh vzorky. Podmienky použité pri analýze PA v jednotlivých publikovaných prácach sú zhrnuté v tabuľke II.

Metóda HPLC s pokolónovou derivatizáciou s vanilínom bola v roku 1997 na základe spoločnej práce desiatich laboratórií akceptovaná ako oficiálna metóda AOAC na stanovenie monenzínu v krmivách a premixoch krmných zmesí<sup>32</sup>. Pod-

Tabuľka II  
Podmienky niektorých HPLC stanovení polyéterových antibiotík s pokolónovou derivatizáciou

Analyt <sup>a</sup>	Matrica	Príprava vzorky	Eluent; prietok	Analytická kolóna	Pokolónové činidlo; prietok	Podmienky <sup>b</sup>	Lit.
SAL	krmivo	extrakcia: etanol:propan-2-ol, 15:2; mikrovln. 2x8 s	acetonitril:voda:k. octová, 960:38:2; 0,5 ml.min <sup>-1</sup>	24,4x0,4 cm, Lichrospher 100 RP-18, 5 µm	DMABA <sup>c</sup> :H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :metanol, 7,5:5:94,5 (w/v/v); 0,4 ml.min <sup>-1</sup>	85 °C; 10 mx0,5 mm; 592 nm	3
SAL	krmivo	extrakcia: hexán, mix. 2 h	etylacetát:izooktán:k. octová; trietylamín, 750:250:4:2; 0,54 ml.min <sup>-1</sup>	25x0,46 cm, Zorbax SIL	vanilín:H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :etanol, 15:10:490 (w/v/v); 0,27 ml.min <sup>-1</sup>	95 °C; 7,5 mx0,25 mm; 527 nm	23
MON, NAR, SAL	krmivo	extrakcia: metanol, mix. 1 h	metanol:voda:k. octová, 940:59:1; 0,7 ml.min <sup>-1</sup>	25x0,46 cm, Partisil ODS-3, 5 µm	vanilín:H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :metanol, 10:2:98 (w/v/v); 0,7 ml.min <sup>-1</sup>	70 °C; 7,6 mx0,5 mm; 520 nm	24
MON	fermentačná pôda	extrakcia: metanol	NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (pH 3,0):metanol, 3:17; 1,5 ml.min <sup>-1</sup>	5x0,45 cm, Regis Little Champ ODS, 3 µm	vanilín:H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :metanol, 3:3:100 (w/v/v); 1 ml.min <sup>-1</sup>	120 °C; 3,05 mx0,25 mm; 520 nm	26
MON	krmivo	extrakcia: metanol:voda, 9:1; mix. 1 h	metanol:voda:k. octová, 960:60:1; 0,7 ml.min <sup>-1</sup>	25x0,46 cm, Partisil ODS-3, 5 µm	vanilín:H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :metanol, 3:2:95 (w/v/v); 0,7 ml.min <sup>-1</sup>	98 °C; 2 ml; 520 nm	28 (AOAC metóda)
MON, SAL, NAR	krmivo	extrakcia: hexán:etylacetát, 9:1; mix. 2 h	metanol:5% k. octová, 9:1; 0,5 ml.min <sup>-1</sup>	6x0,46 cm, C18 (HP)	vanilín:H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :metanol, 2:10:490 (w/v/v); 1,0 ml.min <sup>-1</sup>	95 °C; 1,5 ml; 520 nm	29
MON	mlieko, tkanivo	extrakcia: metanol:voda; reextrakcia: dichlórmetán; SPE Si	metanol:voda:k. octová, 960:60:1; 0,7 ml.min <sup>-1</sup>	25x0,46 cm, Partisil ODS-3, 5 µm	vanilín:H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :metanol, 3:2:95 (w/v/v); 0,7 ml.min <sup>-1</sup>	98 °C; 6,1 mx6,1 mm; 520 nm	35
MON, SAL, NAR	tkanivo	extrakcia: izooktán:etylacetát, 9:1, mix. 5 min; SPE Si	metanol:0,01 M octan amónny (pH 4,0), 94:6; 0,5 ml.min <sup>-1</sup>	25x0,32 cm, Inertsil ODS-3, 5 µm	vanilín:H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :metanol, 9,5:2,5:125 (w/v/v); 0,3 ml.min <sup>-1</sup>	100 °C; 150x4,6 mm; náplň 75 µm sklen. guľičky; 520 nm	36
MON	tkanivo	extrakcia: 85% metanol; 5 min ultrazvuk; reextrakcia: dichlórmetán; SPE Si	methanol:voda:H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> , 940:60:1; 0,7 ml.min <sup>-1</sup>	30x0,39 cm, µBondapakTM, 5 µm C18	vanilín (30 mg.ml <sup>-1</sup> ) v 2% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> v metanole; 0,7 ml.min <sup>-1</sup>	90 °C; 3 mx1 mm; 520 nm	37
MON, NAR, SAL	–	–	metanol:0,1% k. octová, 94:6; 20 µl.min <sup>-1</sup>	55x0,1 cm, Separon C18, 5 µm	0,5 M-DMABA <sup>c</sup> v metanole; 0,75 M-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ; 5 µl.min <sup>-1</sup>	75 °C; 150x1 mm; náplň 40–70 µm sklen. guľičky; 592 nm	38

<sup>a</sup> SAL – salinomycín, MON – monenzín, NAR – narazín, <sup>b</sup> teplota; reakčná celá, vlnová dĺžka, <sup>c</sup> DMABA – 4-(dimetylamino)benzaldehyd

mienky metódy AOAC pre stanovenie PA boli aplikované Rodewaldom a spol. aj pri stanovení narazínu v krmivách<sup>30</sup> a taktiež aj pri stanovení monenzínu v kuracích tkanivách<sup>33</sup>. V tomto prípade bol zvolený iný postup prípravy vzorky, keď metanolový extrakt tkaniva bol ešte prečistený reextrakciou do tetrachlórmetánu s jeho následným prečistením na silikagélovej SPE kolónke pred analýzou HPLC.

Okrem stanovenia PA vo fermentačných pôdach a medicovaných krmivách našla metóda HPLC s pokolónovou derivatizáciou<sup>33–37</sup> svoje uplatnenie aj pri stanovovaní reziduií PA v živočíšnych produktoch. Vzhľadom na nízku koncentráciu stanovovaného analytu v týchto vzorkách je veľmi dôležitým krokom úprava vzorky, ktorá zahŕňa zakoncentrovanie analytu a odstránenie možných interferujúcich zložiek. Pre tento účel sa používa viacnásobná kvapalinová extrakcia do rozpúšťadiel s rôznou polaritou<sup>34</sup>, zakoncentrovanie a prečistenie extraktov na SPE kolónkach<sup>36</sup>, alebo kombinácia oboch týchto techník<sup>33,35,37</sup>. Gerhard a spol. prezentovali aplikáciu metódy HPLC na sledovanie reziduií monenzínu, salinomycínu, narazínu a lasalocidu v živočíšnych tkanivách<sup>36</sup>. Separáciu antibiotík robili na kolóne s reverznou fázou C18, ako mobilnú fázu použili zmes metanolu a 0,01 M octanu amónneho (94:6). Na detekciu antibiotík aplikovali duálny detekčný systém, keď lasalocid detegovali priamo fluorescenčným detektorom (excitácia pri 300 nm, emisia pri 420 nm) a zvyšné antibiotiká detegovali pokolónovou derivatizáciou s vanilínom. Príprava vzorky spočívala v extrakcii analytov do zmesi izooktán–etylacetát a prečistení extraktu na silikagélových SPE kolónkach. Uvedeným spôsobom sa im v priebehu 16 min. podarilo detegovať lasalocid, salinomycín a narazín na úrovni 5 ng.g<sup>-1</sup> a monenzín 2 ng.g<sup>-1</sup>.

Okrem vanilínu boli pre pokolónovú derivatizačnú reakciu testované aj iné benzaldehydové činidlá. Fejglóva a spol.<sup>38</sup> porovnávali pri stanovení monenzínu, narazínu a salinomycínu nasledovné detekčné činidlá: vanilín, 4-dimetylamino-benzaldehyd, 3,4-dimetoxybenzaldehyd a salicylaldehyd. Z týchto 4-dimetylamino-benzaldehyd v porovnaní s vanilínom poskytoval citlivejšiu reakciu so salinomycínom a narazínom. Praktické využitie 4-dimetylamino-benzaldehydu pri stanovení salinomycínu v krmných zmesiach<sup>3</sup> a v kuracom mäse a vajciach popísali Akhtar a spol.<sup>34</sup> Na extrakciu antibiotika použili mikrovlnnú extrakčnú jednotku, čím sa im podarilo výrazne znížiť potrebný čas extrakcie (2×8 sekúnd), v porovnaní s klasickými spôsobmi (0,5–1 hod).

## 5.2. HPLC s predkolónovou derivatizáciou

Ďalším možným spôsobom zvýšenia citlivosti detekcie PA je príprava vhodných derivátov pred samotnou separáciou. V prípade polyéterových antibiotík bolo odskúšaných viacero reakcií na získanie derivátov aktívnych v UV oblasti, ako aj fluorescenčne aktívnych derivátov.

V roku 1986 Dimmena a spol. navrhli detekciu salinomycínu po oxidácii hydroxylovej skupiny na tetrahydropyránovom kruhu na ketoskupinu, ktorá v konjugácii so susednou nenasytenou väzbou dáva silnú absorpciu žiarenia pri 225 nm (cit.<sup>39</sup>). Ako oxidačné činidlo použili dvojchroman pyridínia. Látky, ktoré pri stanovení interferovali, odstránili použitím techniky prepájania kolón (column-switching), samotnú separáciu robili na kolóne s reverznou fázou. Ako mobilnú fázu

použili zmes acetonitrilu, tetrahydrofuránu, vody a kyseliny fosforečnej (900:40:60:0,1). Dosiagnuté medze stanovenia salinomycínu vo vzorkách tkanív boli na úrovni 100 ng.g<sup>-1</sup>. Metóda bola neskôr aplikovaná aj na stanovenie salinomycínu vo vzorkách ľudskej plazmy<sup>40</sup>. V polovici 90. rokov popísal Mathur<sup>41</sup> HPLC stanovenie salinomycínu v krmivách. Na zvýšenie citlivosti detekcie využil reakciu 2,4-dinitrofenylhydrazínu s voľnou karbonylovou skupinou salinomycínu v prostredí kyseliny chlórovodíkovej<sup>41</sup>. Produktom reakcie bol farebný hydrazón salinomycínu s absobčným maximom pri 419 nm, ktorý bol separovaný od činidla na kolóne s reverznou fázou C18. Modifikovaný postup bol použitý aj na stanovenie salinomycínu, narazínu a monenzínu v krmivách<sup>42</sup>.

Stanovenie veľmi nízkych koncentrácií (ng.g<sup>-1</sup>) polyéterových antibiotík umožňuje použitie fluorescenčnej detekcie. V druhej polovici 80. rokov boli publikované práce, ktoré popisovali HPLC stanovenie fluorescenčne aktívnych derivátov PA pripravených pomocou 9-antryldiazometánu<sup>43–46</sup>. Metóda bola použitá na stanovenie samotného monenzínu<sup>44–46</sup>, alebo zmesi monenzínu, salinomycínu, narazínu a lasalocidu v živočíšnych vzorkách<sup>43</sup>. V práci Martinéza a Shimodu je popísaná príprava derivátu lasalocidu priamou esterifikáciou s 9-antryldiazometánom a príprava derivátu monenzínu, salinomycínu a narazínu, ktoré najprv acylovali anhydridom kyseliny octovej a až potom esterifikovali 9-antryldiazometánom<sup>43</sup>. Deriváty boli následne prečistené na silikagélovej kolóne, separované na analytickej kolóne s reverznou fázou C8 a detegované pri 418 nm (excitácia pri 365 nm). Stanovované koncentrácie uvedených analytov vo vzorkách tkanív sa pohybovali na úrovni 0,15 µg.g<sup>-1</sup>.

Začiatkom 90. rokov bolo popísané japonskými autormi Asukabe a spol.<sup>47</sup> a Miyakawa a spol.<sup>48</sup> použitie 1-(brómocetyl)pyrénu pri príprave fluorescenčne aktívnych derivátov polyéterových antibiotík. Pripravené pyrénacyl estery salinomycínu a monenzínu boli po prečistení na SPE kolónke (Florasil) analyzované na analytickej kolóne s reverznou fázou C18 za použitia 94 obj.% metanolu ako mobilnej fázy. Deriváty detegovali pri 450 nm (excitácia pri 360 nm). Dosiagnutý limit detekcie salinomycínu a monenzínu vo vzorkách kuracieho mäsa<sup>48</sup> bol len 0,05 µg.g<sup>-1</sup>.

Medzi hlavné nedostatky predkolónovej derivatizácie patrí hlavne prácnosť a čas spojený s prípravou a čistením derivátov, ako aj možnosť nereprodukovateľnosti derivatizácie stopových koncentrácií analytov. Možnou alternatívou stanovenia nízkych koncentrácií bez potreby derivatizácie je spojenie kvapalinovej chromatografie s hmotnostnou detekciou.

## 5.3. HPLC s hmotnostnou detekciou

Spojenie kvapalinovej chromatografie s hmotnostnou detekciou on-line spôsobom sa v posledných desiatich rokoch stalo široko používanou technikou na identifikáciu a stanovenie rôznych antibiotík<sup>49</sup>. Tento rozvoj bol umožnený vývojom pomerne jednoduchých a robustných LC-MS rozhraní (interface) založených na ionizácii analytu pri atmosferickom tlaku, ktoré umožňujú aplikovanie LC-MS techniky v rôznych analytických oblastiach.

Svoje uplatnenie našla táto technika aj pri sledovaní stopových koncentrácií polyéterových antibiotík v živočíšnych produktoch<sup>50–51</sup> a v krmivách<sup>52–54</sup>. Medzi prvé práce popisujúce využitie LC-MS pri identifikácii monenzínu, salinomycínu,

narazínu<sup>50</sup> a lasalocidu<sup>51</sup> v svalovine, pečeni a vajciach domácej hydiny patria publikácie Blanchflowera a Kennedyho z roku 1996, resp. 1995. V práci z roku 1996 sa popisuje príprava vzorky extrakciou analyzovaných látok do zmesi metanol–voda (13:2) pomocou ultrazvuku. Po prečistení analytov reextrakciou do zmesi hexán–toluén (2:1) boli tieto separované na kolóne s reverznou fázou s použitím mobilnej fázy pozostávajúcej z acetonitrilu, metanolu, tetrahydrofuránu, kyseliny trifluoroctovej a vody (67:10:10:0,1:13). Na monitorovanie a kvantifikáciu antibiotík autori použili ich [M+ Na] ióny, pripravené technikou elektrosprejovej ionizácie. Autori popisujú lineárnu závislosť stanovenia sledovaných antibiotík v oblasti 4–160 ng.g<sup>-1</sup>, s detekčným limitom 0,5–1 ng.g<sup>-1</sup>. O dva roky neskôr navrhli Volmer a Lock rýchle stanovenie (~4 min) salinomycínu, lasalocidu, monenzínu A, monenzínu B a narazínu A a narazínu I na krátkej kolóne s reverznou fázou (ODS 3 µm, 50×4 mm) (cit.<sup>52</sup>). Na kompletnú separáciu všetkých zložiek použili ternárny gradient pozostávajúci z okyslenej vody (3% kyselina mravčia), acetonitrilu a metanolu. Polyéterové antibiotiká vo forme sodných komplexov fragmentovali elektrosprejovou ionizáciou, pričom použitím nízkoenergetickej kolízno-indukovanej disociácie (CID) získali väčší počet diagnostických iónov. Vyššiu špecifitu detekcie sa im podarilo dosiahnuť použitím tandemovej MS/MS techniky. Možnosti navrhnutej metódy autori demonštrovali pri stanovení salinomycínu vo vzorkách potravy pre mačky. K vzorke pridali koncentráciu salinomycínu 1 µg.g<sup>-1</sup>, na extrakciu analytu aplikovali postup podľa Akhtara a Croteaua (mikrovlnová extrakcia)<sup>3</sup> a použitím tandemovej MS detekcie dokázali selektívne stanoviť aj tieto nízke koncentrácie. Harris a spol. separovali salinomycín, monenzín, narazín a lasalocid na kolóne s reverznou fázou za cca 18 minút, keď ako mobilnú fázu použili zmes acetonitrilu, 20 mM octanu amonného a metanolu (3:1:1) (cit.<sup>53</sup>). Pri elektrosprejovej kvadrupólovej MS detekcii analytov použili techniku kónicko-nápäťovo-riadenej fragmentácie, čím tiež vytvorili viacero diagnostických iónov, ktoré umožnili spoľahlivejšiu identifikáciu antibiotík.

Z prezentovaných výsledkov vyplýva, že spojenie kvapalinovej chromatografie s hmotnostnou detekciou je vhodné na sledovanie reziduí polyéterových antibiotík vo vzorkách živočíšnych produktov a krmív. Na rozdiel od fluorescenčných metód, ktoré sa na tento účel taktiež používajú, príprava vzoriek pre hmotnostnú detekciu je jednoduchá, nevyžaduje si derivatizáciu a náročné čistiace kroky. Výhodou hmotnostnej detekcie je aj vyššia špecifickosť, ktorá umožňuje identifikáciu a potvrdenie prítomnosti antibiotika vo vzorke na základe jeho hmotnostného spektra.

## 6. Imunochemické metódy – ELISA

ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) patrí medzi imunochemické metódy, ktoré sú založené na selektívnej, reverzibilnej a nekovalentnej väzbe medzi antigénom a protilátkou. V imunochemických metódach sa striedajú dva základné prístupy. Kompetitívny prístup využíva súťaž neznámeho množstva antigénu (napr. polyéterového antibiotika) so známym množstvom antigénu značeného enzýmom o väzobné miesta na protilátke viazanej v jamkách mikrotitračných platničiek<sup>55</sup>. Nekompetitívny (tzv. sendvičový) prístup využí-

va väzbu stanovovaného antigénu na dve protilátky, z ktorých jedna je viazaná na pevnom nosiči (napr. stena mikrotitračnej platničky), a druhá protilátka značená enzýmom je naviazaná na antigén<sup>55–65</sup>. Posledným krokom v oboch prípadoch je naviazanie substrátu, ktorý spôsobí merateľnú zmenu vlastností reakčného systému, napríklad zmenu absorbancie, chemiluminiscencie či fluorescencie.

Práce zaoberajúce sa štúdiom použitia metód pri stanovení polyéterových antibiotík boli väčšinou publikované v druhej polovici deväťdesiatych rokov, no prvé práce sa objavili už koncom 80. rokov. Autori v publikáciách z tohto obdobia popisujú stanovenie monenzínu<sup>55,59–61,63–64</sup>, salinomycínu<sup>4,56–58</sup> a lasalocidu<sup>65</sup> v biologických vzorkách, využívajúc v prevažnej miere nekompetitívny, sendvičový typ analýzy. Popisuje sa taktiež príprava polyklonálnych a monoklonálnych protilátok, ich značenie enzýmami, z ktorých najčastejšie sa vyskytuje chrenová peroxidáza<sup>4,57–60,63</sup> a v menšej miere alkalická fosfatáza<sup>64</sup>. Enzymatická aktivita sa stanovuje viacerými spôsobmi, z ktorých sa popisujú spektrofotometrické<sup>4,57–60,63,65</sup> fluorescenčné<sup>56,62</sup> a chemiluminiscenčné metódy<sup>61</sup>. Príprava vzorky v metódach ELISA spočíva v jej homogenizácii v biologických pufoch (napr. TRIS), pričom sa supernatant priamo analyzuje. Typickými analyzovanými matricami sú tkanivá hydiny a dobytky, krvná plazma a mlieko.

Koncentrácie PA stanovované vo vzorkách sa bežne pohybujú na úrovniach µg.g<sup>-1</sup> až ng.g<sup>-1</sup>. Elissalde a spol.<sup>58</sup> vypracovali metódu ELISA, pri ktorej extrahovali salinomycín zo vzoriek pečene z hydiny do tmivého roztoku TRIS (pH 7,2), k extraktu pridali pripravenú protilátku a po hodinovej inkubácii reakčnú platničku premyli antiserom značeným peroxidázou. Po hodinovej inkubácii platňu premyli 0,5% roztokom tenzidu Tween 20 a enzymovú aktivitu stanovovali spektrofotometricky pomocou 2,2'-azinobis(3-etylbenziazolín-6-sulfónovou kyselinou). Stanovenie bolo citlivé na prítomný salinomycín v koncentracii 1,25–5 ng.g<sup>-1</sup> s návratnosťou 87 %. Okrem salinomycínu bola pripravená monoklonálna protilátka citlivá aj pre narazín o koncentracii 0,34–1,17 ng/jamku. Iný typ prípravy vzorky použili Crooks a spol.<sup>60</sup>, keď monenzín vo vzorkách pečene hydiny extrahovali do acetonitrilu, extrakt zmiešali s 0,2 M-NaOH, a tento reextrahovali do zmesi hexán–dietyléter (1:1). Po odparení organickej zložky vzorku na analýzu pripravili rozpustením v zmesi etanolu a 100 mM octanu sodného (2:18). Stanovenie prebiehalo v mikroplatničkách, ktoré mali na steny naviazanú protilátku. Na platničky sa pridala stanovovaná vzorka a monenzín značený chrenovou peroxidázou a zmes sa inkubovala 90 min pri 37 °C. Enzymatická aktivita peroxidázy sa stanovovala spektrofotometricky pomocou tetrametylbendzínu. Pri stanovení autori popisujú lineárnu kalibračnú krivku v rozmedzí 1–50 ng.g<sup>-1</sup>, s limitom detekcie 2,91 ng.g<sup>-1</sup>. Crooks a spol.<sup>55</sup> využili metódu ELISA pri stanovení reziduí monenzínu v krvnej plazme dobytky; na stanovenie enzymatickej aktivity využili fluorescenciu, dosiahnutý limit detekcie a kvantifikácie bol 14 a 26 ng.ml<sup>-1</sup>. Širšie použitie stanovenia polyéterových antibiotík metódou ELISA umožnilo uvedenie komerčnej súpravy určenej na sledovanie prítomnosti salinomycínu v krmivách a tkanivách<sup>66</sup> na trh v roku 1996 spoločnosťou ARS & Neogen Corp. Keďže metódy ELISA patria medzi najcitlivejšie metódy stanovenia PA, ich hlavné uplatnenie je pri stanovení stopových koncentracií PA v biologických a krmovínárskych matriciach.

## 7. Záver

Vzhľadom na stúpajúci trend používania PA vo veterinárnej medicíne vznikla potreba ich sledovania v medikovaných krmivách a vo vzorkách biologických produktov. Tento cieľ je možné dosiahnuť viacerými analytickými postupmi, ktoré môžu byť založené na rozdielnych princípoch, z ktorých najvýznamnejšie sú stanovenia mikrobiologické, spektrofotometrické, imunochemické alebo separačné. Mikrobiologické stanovenia sú stále používané pri určení účinnosti antibiotika, ale postupom času sú nahrádzané časovo menej náročnými metódami. Techniky TLC a ELISA sú vhodné predovšetkým na účely zistenia prítomnosti a identifikácie PA. Technika kvapalinovej chromatografie sa presadila ako metóda pre potvrdenie prítomnosti analytu (confirmation) a v spojení s pokolónovou derivatizáciou benzaldehydovými činidlami sa v súčasnosti stala najpoužívanejšou metódou pri analýzach krmív, premixov a biologických produktov. Takisto rozvoj techniky LC-MS v posledných rokoch umožnil jej širšie použitie pri identifikácii a kvantifikácii PA na úrovniach  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ .

## LITERATÚRA

- Berdy J., Aszalos A., Bostian M., McNitt K. L.: *CRC Handbook of Antibiotic Compounds*, zv. V. CRC Press, Boca Raton, Florida 1980.
- The American Board of Veterinary Toxicology (ABVT): <http://www.abvt.org/ionop.html>
- Akhtar H. M., Croteau L. G.: *Analyst* 121, 803 (1996).
- Watanabe H., Satake A., Kido Y., Tsuji A.: *Anal. Chim. Acta* 437, 31 (2001).
- Kline R. M., Stricker R. E., Coffman J. D., Bikin H., Rathmacher R. P.: *J. AOAC Int.* 53, 49 (1970).
- Kavanagh F. W., Willis M.: *J. AOAC Int.* 55, 114 (1972).
- Vestník Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky*, Čiastka 11, 1998.
- Golab T., Barton S. J., Scroggs R. E.: *J. AOAC Int.* 56, 171 (1973).
- Martinez E. E., Shimoda W.: *J. AOAC Int.* 66, 1506 (1983).
- Martinez E. E., Shimoda W.: *J. AOAC Int.* 67, 845 (1984).
- Karkocha I.: *Rocz. Panstw. Zakl. Hig.* 34, 281 (1983).
- Karkocha I.: *Rocz. Panstw. Zakl. Hig.* 35, 247 (1984).
- Karkocha I.: *Rocz. Panstw. Zakl. Hig.* 36, 310 (1985).
- Owles P. J.: *Analyst* 109, 1331 (1984).
- Asukabe H., Yoneyama H., Mori Y., Harada K.-I., Suzuki M.: *J. Chromatogr.* 396, 261 (1987).
- Blomkvist G. B., Jansson K. M., Ryhage E. R., Osterdahl, B.-G.: *J. Agric. Food Chem.* 34, 274 (1986).
- Landgraf W. W., Ross P. F.: *J. AOAC Int.* 81, 844 (1998).
- Gafner J. L.: *J. AOAC Int.* 82, 1 (1999).
- Schwaiger I., Horner H.: *Wien. Tierarztl. Monatsschr.* 79, 365 (1992).
- VanderKop P. A., MacNeil J. D.: *J. Chromatogr.* 508, 386 (1990).
- Dimenna G. P., Creegan J. A., Turnbull L. B., Wright G. J.: *J. AOAC Int.* 70, 504 (1987).
- Beran M., Zima J.: *Chromatographia* 35, 206 (1993).
- Goras J. T., Lacourse W. R.: *J. AOAC Int.* 67, 701 (1984).
- Blanchflower J. W., Rice D. R., Hamilton J. T. G.: *Analyst* 110, 1283 (1985).
- Sokolic M., Pokorny M.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 9, 1047 (1991).
- Neely F. L.: *J. Liq. Chromatogr.* 15, 1513 (1992).
- Neely F. L.: *Chromatographia* 31, 277 (1991).
- Bridges D. A., Roth D. M., Cleveland C. M., Moran J. W., Coleman M. R.: *J. AOAC Int.* 79, 1255 (1996).
- Lapointe M. R., Cohen H.: *J. AOAC Int.* 71, 480 (1988).
- Rodewald J. M., Moran J. W., Donoho A. L., Coleman M. R.: *J. AOAC Int.* 77, 821 (1994).
- Rodewald J. M., Moran J. W., Donoho A. L., Coleman M. R.: *J. AOAC Int.* 75, 272 (1992).
- Coleman M. R., Moran J. W., Mowrey D. H.: *J. AOAC Int.* 80, 693 (1997).
- Moran J. W., Rodewald J. M., Donoho A. L., Coleman M. R.: *J. AOAC Int.* 77, 885 (1994).
- Akhtar M. H., El-Sooud K. A., Shehata M. A. A.: *Food Addit. Contam.* 13, 897 (1996).
- Moran J. W., Turner J. M., Coleman M. R.: *J. AOAC Int.* 78, 668 (1995).
- Gerhardt G. C., Salisbury C. D. C., Campbell H. M.: *Food Addit. Contam.* 12, 731 (1995).
- Chen X. M., Shi X. X.: *Sepu* 17, 77 (1999); *Analytical WebBase* (ISSN 1471-7107); <http://www.rsc.org/CFAA/>
- Fejglova Z., Dolezal J., Hrdlicka A., Frgalova K.: *J. Liq. Chromatogr.* 17, 359 (1994).
- Dimenna G. P., Creegan J. A., Turnbull L. B., Wright G. J.: *J. Agric. Food Chem.* 34, 805 (1986).
- Karnes H. T., Wei A. T., Dimenna G. P.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 11, 823 (1993).
- Mathur A. K.: *J. Chromatogr.*, A 664, 284 (1994).
- Dusi G., Gamba V.: *J. Chromatogr.*, A 835, 243 (1999).
- Martinez E. E., Shimoda W.: *J. AOAC Int.* 69, 637 (1986).
- Martinez E. E., Shimoda W.: *J. AOAC Int.* 68, 1149 (1985).
- Hoshino Y., Horie M., Nose N., Iwasaki H.: *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* 26, 585 (1985); *Analytical WebBase*, <http://www.rsc.org/CFAA/>
- Takatsuki K., Suzuki S., Ushizawa I.: *J. AOAC Int.* 69, 443 (1986).
- Asukade H., Murata H., Harada K.-I., Suzuki M., Oka H., Ikai Y.: *J. Agric. Food Chem.* 42, 112 (1994).
- Miyakawa H., Horii S., Kokubo Y.: *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* 36, 725 (1995); *Chem. Abstr.* 124, 173755 (1996).
- Niessen W. M. A.: *J. Chromatogr.*, A 812, 53 (1998).
- Blanchflower J. W., Kennedy G. D.: *J. Chromatogr.*, B 675, 225 (1996).
- Blanchflower J. W., Kennedy G. D.: *Analyst* 120, 1129 (1995).
- Volmer D. A., Lock C. M.: *Rapid Commun. Mass. Spectrom.* 12, 157 (1998).
- Harris J. A., Russell C. A., Wilkins J. P.: *Analyst* 123, 2625 (1998).
- Hormazabal V., Yndestad M.: *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 23, 1585 (2000).
- Crooks S. R. H., Fodey T. L., Gilmore G. R., Elliott C. T.: *Analyst* 123, 2493 (1998).

56. Kennedy G. D., Blanchflower J. W., O'Dornan B. C.: Food Addit. Contam. 12, 93 (1995).
57. Muldoon M. T., Elissalde M. H., Beier R. C., Stanker L. H.: J. Agric. Food Chem. 63, 1745 (1995).
58. Elissalde M. H., Beier R. C., Rowe L. D., Stanker L. H.: J. Agric. Food Chem. 41, 2167 (1993).
59. Watanabe H., Satake A., Matsumoto M., Kido Y., Tsuji A., Ito K., Maeda M.: Analyst 123, 2573 (1998).
60. Crooks S. R. H., Traynor I. M., Elliott C. T., McCaughey W. J.: Analyst 122, 161 (1997).
61. Godfrey M. A. J., Luckey M. F., Kwasowski P.: Food Addit. Contam. 14, 281 (1997).
62. Pauillac S., Halmos T., Labrousse H., Antonakis K., Avrameas S.: J. Immunol. Methods 164, 165 (1993).
63. Mount M. E., Failla D. L.: J. AOAC Int. 70, 201 (1987).
64. Heitzman R. J., Carter A. P., Cottingham J. D.: Br. Vet. J. 142, 516 (1986).
65. Kennedy D. G., Blanchflower W. J., O'Dornan B. C.: Food Addit. Contam. 12, 83 (1995).
66. Stanker L. H.: Agric. Res. 44, 23 (1996).

**M. Blazsek** (*Research and Development Section, Biotika Co., Slovenská Lupča, Slovak Republic*): **Review of Analytical Methods of Determination of Polyether Antibiotics**

A review is presented on the current state of analytical techniques used for determination of significant veterinary polyether antibiotics (salinomycin, narasin, monensin and lasalocid) in various matrices by spectrophotometric, microbiological, enzyme-immobilized immunosorbent and chromatographic methods. In particular high-performance liquid chromatography is discussed with special emphasis on various detection methods for these antibiotics.

## POZVÁNKA

Katedra biochemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze

srdečně zve

***na vědecko-pedagogické odpoledne***

konané u příležitosti 50. výročí založení katedry

***ve středu 28. května 2003 od 13 hodin***

v posluchárně CH1 a v prostorách katedry biochemie PřF UK

Albertov 2030, Praha 2

### Hosté vítáni

Potvrďte laskavě svoji účast:

Tel.: 22195 1284

e-mail: biochem@natur.cuni.cz

## BIOPOLYMERY JAKO PLNIVA V PLASTECH

JAN KUPEC, KATEŘINA CHARVÁTOVÁ  
a MARTINA KŘESÁLKOVÁ

Ústav technologie životního prostředí a chemie, Fakulta technologická, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, nám. TGM 275, 762 72 Zlín  
e-mail: kupec@ft.utb.cz

Došlo 15.3.02, přepracováno 12.8.02, přijato 20.10.02.

Klíčová slova: biopolymery, biologický rozklad, plasty, aerobní, anaerobní, blendy

### Obsah

1. Úvod
2. Aplikace biopolymerů jako plniv plastů
3. Využitelné biopolymery
  - 3.1. Polysacharidy
  - 3.2. Bílkoviny
  - 3.3. Ostatní
4. Závěr

### 1. Úvod

Naprostá většina syntetických polymerů (plastů) je přirozenou biologickou cestou nerozložitelná, nebo je v nejlepším případě rozložitelná za velmi dlouhou dobu, přesahující environmentální požadavky. Naopak biopolymery jsou díky své chemické struktuře biologicky snadno rozložitelné a po splnění své funkce se rozpadají na fragmenty, které se zařadí do látkového koloběhu. Biologickou rozložitelností biopolymerů i plastů se zabývá řada studií, jejichž výčet v tomto přehledu není vhodné uvádět; zásadní skutečnosti v tomto ohledu najdeme v pracích z posledních let<sup>1-4</sup>. Převážná část pouze zdůrazňuje nutnost zvýšení stupně biologického rozkladu, ale pouze zlomek z nich uvádí skutečně naměřené výsledky tohoto efektu. Více úsilí je věnováno především vlastnostem dielektrickým, mechanickým aj.

### 2. Aplikace biopolymerů jako plniv plastů

Pro většinu technických aplikací plastů je důležité, aby tyto materiály byly stabilní. V některých odvětvích (zemědělství, výroba obalů aj.) je však naopak žádoucí, aby plastové výrobky – po splnění své primární funkce – mohly být biologicky rozloženy. K tomuto cíli vede řada modifikací (změna struktury, kopolymerace, zavádění funkčních skupin), které jsou zásahem do chemické stavby daného polymeru a mohou částečně splnit alespoň minimální požadavek primárního biologického rozkladu. Další alternativou je mísení (plnění) plas-

tu s biologicky rozložitelným substrátem – biopolymerem. Těmito systémy (blendy) skládajícími se z biopolymeru a biologicky obtížně odbourávaného plastu se zabývá toto sdělení. Nejsou zde tedy citace prací popisujících biologický rozklad samotných biopolymerů, ať již v původním stavu nebo po jejich chemické modifikaci.

Je třeba zdůraznit, že skutečnosti uvedené v dalším textu se týkají prakticky vždy pouze biopolymerní složky diskutovaných směsí. Plastová část nepodléhá (až na výjimky) biologickému rozkladu; její destrukce tkví obvykle pouze ve ztrátě původních mechanických vlastností.

### 3. Využitelné biopolymery

Biopolymery přicházející v úvahu pro daný účel můžeme v zásadě rozdělit do následujících základních skupin (podle četnosti citací):

- polysacharidy,
- bílkoviny,
- ostatní.

Lze říci, že v uvedeném pořadí klesá jejich využití jako plniv v řadě dnes vyráběných plastů. V této souvislosti je nutno si uvědomit, že zakomponování plniva není schůdné cestou pouhého mechanického mísení, ale že je nutné tepelné zpracování, případně za zvýšeného mechanického namáhání či tlaku. Za těchto podmínek pak samozřejmě může docházet ke změnám ve struktuře složek blendu, což může vést ke snížení ochoty k biologickému rozkladu.

#### 3.1. Polysacharidy

V této skupině zaujímá jako plnivo zásadní místo škrob nejrozličnějšího rostlinného původu. Z počtu citací a rozsahu prací je zřejmé, že tento produkt je nejvíce používaným biopolymerem ve funkci degradabilního plniva v plastech. Důvodem jsou jednak ekonomické přednosti, dostupnost z řady zemědělských plodin (např. brambory, kukuřice) i možnost jeho úpravy před vlastní aplikací do plastu. Škála plastů modifikovaných tímto způsobem je velmi široká, a to znovu dokazuje rozmanitost a účelnost využití tohoto plniva. Rychlost biologického rozkladu škrobu je určena řadou jeho vlastností (velikost částic, teplota zpracování, vlhkost), dále obsahem pro-oxidantů, fotoakceleratorů či iniciátorů volných radikálů<sup>5</sup>; z tohoto hlediska není nemodifikovaný škrob ideálním plnivem. Také obsah vody v použitém škrobu je při mísení s plastem důležitý; vyšší vlhkost (nad 0,5 %) např. způsobuje potíže při zpracování<sup>5</sup> (vzduchové bubliny). Zásadní podmínkou úspěšné degradace jsou vhodné životní podmínky pro biomasu (aerobní či anaerobní), typ kultury (homogenní, heterogenní) a druh mikroorganismů.

Nejčastěji jsou škrobem plněny polyolefiny, zejména polyethylen (PE) o nízké hustotě (LDPE). Přehledy této problematiky – s přihlédnutím k systému škrob/PE – uvádějí i některé starší práce<sup>6,7</sup>.

Podstatnou úlohu při použití škrobu hraje velikost částic.

Menší částice se v plastu lépe dispergují a jsou přístupnější pro mikroorganismy. Ahameda<sup>8</sup> uvádí např. výsledky plnění LDPE škrobem z rostlin *Chenopodium quinoa* a *Amaranthus paniculatus*. Granule škrobu tohoto původu (menší než 1  $\mu\text{m}$ ) tvoří např. ve srovnání s kukuřičným škrobem v daném filmu lepší disperze, což vede k vyššímu sklonu k degradaci.

Důležitým fyzikálním zásahem je termické opracování škrobu před jeho aplikací<sup>9–11</sup>. Oxidace byla realizována při teplotách 70–130 °C ve vzdušné lázni či Brabenderově extrudéru. Škrob je touto cestou převáděn na modifikace vhodnější jako zdroj organického uhlíku pro mikroorganismy. Dalším zásahem do struktury škrobu je jeho předřazená částečná destrukce (na kratší fragmenty) pomocí enzymového štěpení. Byla využita zejména  $\alpha$ -amylasa<sup>10,12</sup> např. při teplotě 95 °C (cit.<sup>9</sup>). Menší molekulová hmotnost každého využitelného organického substrátu je příznivým faktorem pro jeho využití aerobní i anaerobní mikroflórou.

Rovněž UV záření (254 nm) je významným faktorem ovlivňujícím svým degradačním účinkem fragmentaci makromolekul škrobu a přispívá tak k lepší výchozí pozici pro degradaci mikroorganismy. Shaha a spol.<sup>9</sup> uvádějí, že již zmíněné faktory působí synergicky a ve svém důsledku (zvětšení povrchu a změny jeho morfologie, zvýšení koncentrace karbonylových či vinylových skupin v blendu) vedou ke zvýšenému stupni biologického rozkladu.

Významným zásahem do složení směsí je přidávek aditiv, zejména tzv. pro-oxidantů. Podrobné výsledky jsou např. uvedeny<sup>10</sup> pro sledování filmů škrob/PE s obsahem 5 hm.% kukuřičného škrobu za přítomnosti či absence pro-oxidativních aditiv. Urychlení rozkladu bylo dosahováno v pufrovaném roztoku  $\alpha$ -amylasy izolované z *Bacillus sp.* a oxidativní degradace inkubací filmů při 70 °C. Postup rozkladu byl podrobně sledován na základě fyzikálních a chemických změn (HPLC, IČ spektra aj.). Filmy bez pro-oxidativního aditiva se během tepelného zpracování neměnily; s aditivem po 20 dnech ztrácely mechanické vlastnosti. U směsí (10–50 hm.% škrobu) hydrolyzovaných zmíněným enzymem se zhoršovaly mechanické vlastnosti a rostl stupeň biologického rozkladu v závislosti na obsahu škrobu.

Další autoři<sup>13</sup> uvádějí příznivé výsledky degradace pro systém škrob/LDPE (3–8 hm.% plniva) získané pomocí IR spektroskopie, diferenční rádkovací kalorimetrie, chemiluminiscence a elektronové mikroskopie. Autoři u popsané směsi (s pro-oxidantem) sledovali rozložitelnost po dobu jednoho roku ve vodném prostředí po inokulaci bakteriemi či houbami (při různých teplotách). Pro-oxidanty podléhají autooxidaci přes hydroperoxydy<sup>11</sup>, které v synergické kombinaci s biologickým rozkladem škrobu případně iniciují autooxidaci matrice LDPE. Délka indukční periody závisí na tloušťce filmu a aktivitě mikrobiálního systému. Více než 48 % škrobu je odstraněno během prvního roku.

Naopak Krupp a Jewell<sup>14</sup> v případě dvou druhů PE filmů obsahujících škrob (D-Grad a Polar, výrobce Manchester Packaging Co., St. James, MO, příp. Polar Plastics Inc., North St. Paul, MN) nezískali lepší výsledky aerobního i anaerobního rozkladu ani s přidávkem pro-oxidantu a nebyla účinná ani disintegrace vzorků.

Podstatnou roli hraje samozřejmě i množství přidaného plniva. Byly připraveny směsi s širokou škálou koncentrací (do 67 hm.%); zde je nutno mít ovšem na paměti předchozí typ úpravy škrobu. Optimální hodnota (jak z hlediska rozkla-

du, tak vyhovujících mechanických vlastností) se uvádí kolem 30 hm.% (cit.<sup>15</sup>). Trznadel<sup>11</sup> popsal a potvrdil jeho lepší uplatnění po tepelné modifikaci. Při nižším obsahu byl škrob zabudován ve své původní struktuře; materiály s vyšším obsahem byly plněny plnivem tepelně destruovaným. Směsi s nízkým obsahem plniva podléhají rozkladu za přispívku autooxidantů tvořících peroxidy, které napomáhají štěpení polymerních řetězců škrobu. Polymery s vyšším obsahem modifikovaného škrobu (uspokojivých mechanických vlastností) podléhají mikrobiálnímu rozkladu a residua se dispergují do prostředí.

V Barenbergově monografii<sup>16</sup> byla věnována značná pozornost chování směsi škrob/LDPE za aerobních i anaerobních podmínek s inokulací půdními bakteriemi, říčními sedimenty i aktivovaným kalem. Při obsahu škrobu od 3 do 67 hm.% byl rozklad sledován úbytkem hmotnosti, FTIR spektroskopii či podle produkce CO<sub>2</sub>. Výsledky byly kolísavé a neprůkazné, příčinou byla pravděpodobně špatná přístupnost dispergovaných částic plniva pro mikroorganismy. Lze mít také výhrady např. ke kvantitativnímu stanovení rozkladu podle úbytku hmotnosti.

V již citované práci<sup>1</sup> je uváděna výroba a vlastnosti (včetně biologické rozložitelnosti) směsí škrobu s polyolefiny [(LDPE, PE o vysoké hustotě (HDPE), lineární PE u nízké hustotě (LLDPE), polypropylen (PP)]. Protože škrob je stabilní do teploty 265 °C, lze tyto směsi pro obalové materiály bez problémů připravovat při 170–230 °C různými zpracovatelskými postupy. Jejich obchodní název je Polyclean<sup>TM</sup>. Testování ochoty k biologickému rozkladu byla věnována značná pozornost i s ohledem na obsah dalších komponent (katalyzátory, antioxidanty) a molekulovou hmotnost.

Andrady v již uvedené monografii<sup>2</sup> také shrnuje využití škrobu jako plniva do PE, směsí obsahujících PE nebo kopolymerů ethylenu. Filmy s 6–60 hm.% ve většině případů nesplnily očekávání masivního biologického rozkladu. Např. u směsí chudších škrobem (do 10 %) se polymerem limituje dostupnost škrobových granulí pro mikrobiální flóru, a tím se omezuje rozklad plněného plastu.

Přehled výsledků výzkumu prováděného v United States Department of Agriculture v oblasti blendů některých plastů popsal Doane<sup>12</sup>. Zkoumal mechanismus biologického rozkladu plastů plněných škrobem v různých prostředích; šlo zejména o kombinace škrobu s PE a poly(ethylen-co-akrylovou) kyselinou (PEA). Některé bakterie degradují v těchto blendech více než 80 % škrobu (při jeho obsahu 40 hm.%) v kapalném mediu za 60 dní. Elektronovou mikroskopii bylo zjištěno, že amylolytické bakterie (*Arthrobacter sp.*) mohou ze směsi metabolizovat škrob za 56 dní. Práškový polymer tohoto typu byl hydrolyzován amylasami ze 40–60 % během několika dní. Při vyšších obsazích škrobu je rozklad vyhovující, ale fólie mají velmi špatné mechanické vlastnosti. Optimum je kolem 30 hm.%, kdy je škrobová složka přístupná bakteriím; PE je samozřejmě rezistentní.

V již uvedených citacích byly zmíněny některé údaje o biologickém rozkladu diskutovaných směsí škrob/PE; pro úplnost je vhodné některá fakta doplnit. Řada autorů se zabývala aerobními i anaerobními podmínkami<sup>14,16–18</sup> (s rozmanitými typy inokula) a uváděla nejhrůznější doby rozpadu (či jeho stupně) diskutovaných směsí. Např. při kompostování, kdy aerobní podmínky přecházejí postupně na anaerobní, byly zjištěny doby až do dvou let<sup>18</sup>. Byl např. korelován obsah škrobu s biochemickou spotřebou kyslíku (BSK) a procentem



degradace<sup>13</sup>; potvrdil se opět rozpad pouze biopolymerní složky. Inokulace houbami či bakteriemi<sup>13</sup> vede např. k odbourání asi 50 % škrobové složky za 1 rok. Intenzifikací podmínek kompostování<sup>17</sup> provzdušňováním v reaktoru při teplotách 60 a 100 °C se proces urychlí, ale i prodraží.

Málo četné jsou údaje o blendách škrobu s poly(methylakrylátem) (PMA); nicméně podrobné výsledky jsou v práci<sup>14</sup>, ve které byl studován aerobní a anaerobní biologický rozklad roubovaného kopolymeru obsahujícího tyto dvě složky i řady dalších směsí. Pro zmíněný systém je opět uveden závěr, že biologicky odbouratelná je pouze neplastová část směsi, a to i v případě desintegrace vzorků a přidavku pro-oxidativních aditiv.

Kromě již uvedených polyolefinů je škrob uváděn jako plnivo do dalších plastů; směsi s polystyrenem (PST) a polyvinylchloridem jsou popsány v přehledném článku Seppaly a spol.<sup>7</sup> bez konkrétnějších údajů o biologické rozložitelnosti těchto systémů. Směs škrobu s poly( $\epsilon$ -kaprolaktonem) (PKL) (cit.<sup>19</sup>) byla sledována z hlediska vlivu půdního prostředí. Autoři uvádějí, že optimálními podmínkami jsou neutrální pH, 60–100% vlhkost a 0,25% obsah polymeru v půdě; v případě vyššího zatížení půdy přidaným materiálem rostlo jeho zbytkové množství.

Plnění polyvinylalkoholu (PVA) a poly(*N*-methylolakrylamidu) (PMAA) škrobem<sup>20</sup> bylo patentováno již v sedmdesátých letech pro povrchovou úpravu papíru. Tento systém byl z hlediska biologické rozložitelnosti již více sledován<sup>21–23</sup>. Uvedené práce sice zdůrazňují výhody využití těchto blendů, ale opět málo konkrétně. Zajímavý je článek popisující chování spřádacích roztoků<sup>24</sup> na bázi PVA obsahujícího enzym proteasu C a další aditiva (alginát sodný); zde byla prokázána korelace mezi proteolytickou aktivitou připravených filmů a složením připravených roztoků.

Bezner<sup>25</sup> popisuje přípravu obalového materiálu z blendů škrobu (bramborového, kukuřičného a pšeničného v množstvích 20–47 hm.%) s PVA technologií extruze s glycerolem jako změkčovačem. Rozklad připravených směsí byl sledován simulací přírodních podmínek (kompostování) pomocí světelného a elektronového řádkovacího mikroskopu. Obecný závěr byl, že procento mikroorganismů hydrolyzujících škrob (*Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.* a sterilních mycelií) v kompostu roste s obsahem škrobu. Zajímavý článek<sup>22</sup> uvádí výsledky biologické rozložitelnosti blendů na bázi termoplastického škrobu a PVA, anebo některých alifatických bakteriálních polyesterů. Tyto biopolymery nemají dobré mechanické vlastnosti a mohou být pro jejich zlepšení modifikovány jak syntetickými, tak přírodními polymery. Obsáhlé informace podává přednáška<sup>26</sup> zabývající se využitím škrobu ve směsích s různými polymery s důsledným přihlédnutím k jejich biologickému rozkladu v prostředí. Důležitou okolností je, že v těchto směsích byl použit škrob plastifikovaný (termoplastický). Pro směsi škrobu s poly(ethylen-co-vinylalkoholem) se uvádí po zpracování běžnými technologiemi (vstřikování, vyfukování) destrukce mikroorganismy v rozmezí 2–3 let. Uspokojivý biologický rozklad vykazují např. i směsi škrobu s alifatickými polyesterů či PKL; výrobky jsou dobře kompostovatelné. Totéž lze říci i o směsích termoplastického škrobu s PVA či polyalkylenglykoly (PAG). Pod značkou Mater-Bi firmy Novamont je produkována řada biologicky rozložitelných materiálů založených na kombinacích škrobu s různými syntetickými materiály. Jsou zařazeny do

různých tříd podle vlastností. Z hlediska biologické rozložitelnosti je materiál např. ve třídě Z biologicky rozložitelný a kompostovatelný, ve třídě A biologicky rozložitelný, ale nevhodný ke kompostování.

Do kategorie plniv na bázi polysacharidů lze zařadit mimo již obsáhleji diskutovaný škrob i méně obvyklé látky. Gartiser a spol.<sup>27</sup> uvádějí, že směsi různých polymerů se škrobem či deriváty celulozy vykazovaly biologický rozklad za anaerobních podmínek v rozsahu mezi 45 až 87 % i za 15 dnů; výsledky byly ovlivněny postupy použitými při jeho stanovení. Polští autoři<sup>28,29</sup> se podrobně zabývali plněním některých plastů (PP, PE, modifikované polyesterů) celulozou, alginátem sodným či chitosanem (5–21 hm.%) v lyofilizované formě; u směsí s různým zastoupením polymerních složek a aditiv sledovali zejména jejich rozložitelnost v půdě i vodě. Působení mikroorganismů bylo posuzováno ztrátou hmotnosti filmů, sorpční kapacitou vody a elektronovou mikroskopií. V některých případech docházelo ke ztrátám hmotnosti vyšším, než odpovídalo obsahu přírodních plniv; docházelo tedy i k rozkladu ostatních složek. Výsledky samozřejmě silně závisí na velikosti částic plniv a jejich distribuci v polymerním filmu. Filmy plněné celulozou se lépe rozkládaly v půdě, filmy plněné alginátem sodným zase ve vodné fázi.

### 3.2. Bílkoviny

Bílkoviny nejrůznějšího typu v kombinaci se syntetickými polymery tvoří další (již méně početnou) skupinu směsí, vyráběných s cílem zvýšit schopnost výrobku podléhat biologickému rozkladu. Lim a spol.<sup>30</sup> popisují přípravu směsí z pšeničného glutenu a alifatických polyesterů, které mimo dobré fyzikální a termické vlastnosti jsou i biologicky rozložitelné. Jako plastifikátorů v těchto blendách bylo využito některých nízkomolekulárních polyolů, které zvyšují technologickou zpracovatelnost glutenu.

Jiný autor<sup>31</sup> uvádí blendy složené ze sojové bílkoviny a polyfosfátů s cílem zvýšit afinitu k vodě.

Kenawy a spoluautoři<sup>32</sup> uvádějí přípravu a rozklad půdními bakteriemi u filmů složených z blendů odpadní želatiny a PVA. Fólie byly mj. i síťovány glutardialdehydem kvůli možnosti řízení rychlosti jejich rozkladu v půdě. Za stejných podmínek se PVA v intervalu 40 dnů téměř nerozkládala.

V poslední době se objevilo zajímavé využití bílkovinných hydrolyzátů (BH) připravených enzymovou cestou z chromem vyčinených usňových odpadů. Slovenští autoři<sup>33</sup> se zabývali přípravou folií ze směsí BH a PVA, které vykazovaly dobré vlastnosti z hlediska tepelné stability při jejich zpracování na fólie vyfukováním. Mechanické vlastnosti těchto folií byly srovnatelné s čistým PVA a za anaerobních podmínek poskytly nadějně výsledky i z hlediska biologické rozložitelnosti v půdě, jak prokázala indikace vývojem oxidu uhličitého. Další práce z téhož pracoviště<sup>34–36</sup> popisují podrobně výsledky zkoumání blendů BH/PVA ve formě vyfukovaných folií z hlediska biologického rozkladu na základě standardních testů (opět na stejném indikačním principu). Fólie tohoto typu byly také testovány třicetidenní inkubací s vyhnílym aktivovaným kalem za anaerobních podmínek<sup>37,38</sup>. Tyto vzorky podle obsahu BH mezi 11–24 hm.% vykazovaly 12–17% rozklad (vliv síťování během termického zpracování folií), zatímco příslušné mechanické směsi vykazovaly příbližně dvojnásobný efekt.

### 3.3. Ostatní

Jako příklad jiného plniva lze uvést lignin. Klason a Kubat<sup>39</sup> využili ligninu k plnění HDPE a PP spolu s dalšími aditivami pro zvýšení adheze mezi matricí a částicemi plniva. Stejně jako další autoři<sup>40,41</sup> si ale nekladli za cíl sledovat biologický rozklad; zaměřili se především na změny v mechanických vlastnostech výsledných směsí (kromě PE i PP) a nevěnovali se degradaci biologickým – spíše světelné a tepelné stabilitě.

## 4. Závěr

Výsledky prací citovaných v předloženém přehledu odrážejí snahu technologů o zvýšení biologického rozkladu některých plastů pomocí přísady biopolymerů. Je zřejmé, že až na výjimky dochází vlastně jen k určitému typu primárního rozkladu, na kterém se podílí pouze biopolymerová složka. Plastová matrice je však přitom někdy alespoň částečně mechanicky destruuována, a tím je splněn základní předpoklad pro další dlouhodobý rozpad v prostředí. Nejvíce využívaným biopolymerem je škrob nejčistšího původu a stupně zpracování. Z plastů jsou plněny především polyolefiny nebo poly(vinylalkohol). V budoucnu je možno očekávat i uplatnění bílkovin (zejména odpadních a jejich hydrolyzátů). Jejich ekonomická nenáročnost (vedle stále naléhavější nutnosti přípravy plastů nezatažujících životní prostředí) bude rozhodujícím kritériem pro využití těchto blend zejména v obalové technice.

### Seznam symbolů

BH	bílkovinný hydrolyzát
BSK	biochemická spotřeba kyslíku
FTIR	Fourierova transformační infračervená spektroskopie
HDPE	polyethylen o vysoké hustotě
HPLC	vysokotlaká kapalinová chromatografie
IR	infračervená spektroskopie
LDPE	polyethylen o nízké hustotě
LLDPE	lineární polyethylen o nízké hustotě
PAG	polyalkylenglykoly
PE	polyethylen
PEA	poly(ethylen-co-akrylová) kyselina
PEVA	poly(ethylen-co-vinylalkohol)
PKL	poly( $\epsilon$ -kaprolakton)
PMA	poly(methyl-akrylát)
PMAA	poly( <i>N</i> -methylolakrylamid)
PP	polypropylen
PST	polystyren
PVA	poly(vinylalkohol)
PVC	poly(vinylchlorid)

*Tato práce byla vypracována v rámci výzkumných záměrů MSM 281100002 a MSM 265200014 za finanční podpory Fondu rozvoje MŠMT.*

### LITERATURA

- Griffin G. L. J. (ed.): *Chemistry and Technology of Biodegradable Polymers*. Blackie Academic and Professional, London 1994.
- Mark J. E. (ed.): *Physical Properties of Polymers Handbook*. AIP Press, Woodbury 1996.
- Mohanty A. K., Misra M., Honrichsen G.: *Macromol. Mater. Eng.* 276, 1 (2000).
- Wool R. P., v knize: *Degradable Materials, Perspectives, Issues and Opportunities* (Barenberg J., ed.), str. 511. CRC Press, Boca Raton 1990.
- Armistead C. R., v knize: *Chemistry and Technology of Biodegradable Polymers Handbook* (Griffin G. L. J., ed.), str. 97. Blackie Academic and Professional, London 1994.
- Griffin G. L. J.: *Degradability of Polymers and Plastic Conference, London, 27–28 November 1973*. Conf. Papers No. 15, str. 11.
- Seppala J., Linko J., Sutti Y.: *Acta Polytech. Scand.-Chem.Tech. Metall. Ser.* 198, 1 (1991).
- Ahamed T. N., Singhal R. S., Kulkarni P. R., Kalea D. D., Mohinder P.: *Carbohydr. Polym.* 31, 157 (1996).
- Shaha P. B., Bandopadhyay S., Bellare J. R.: *Polym. Degrad. Stab.* 47, 165 (1995).
- Sung W., Nikolov Ž. L.: *Ind. Eng. Chem. Res.* 31, 2332 (1992).
- Trznadel M.: *Polimery (Warsaw)* 40, 485 (1995).
- Doane W. M.: *Starch/Staerke* 44, 293 (1992).
- Albertsson A. C., Barenstedt C., Karlsson S.: *J. Appl. Polym. Sci.* 51, 1097 (1994).
- Krupp L. R., Jewell W. J.: *Environ. Sci. Technol.* 26, 193 (1992).
- Goheen S. M., Wool R. P.: *J. Appl. Polym. Sci.* 42, 2691 (1991).
- Austin R.G., v knize: *Degradable Materials, Perspectives, Issues and Opportunities* (Barenberg J., ed.), str. 237. CRC Press, Boca Raton 1990.
- Albertsson A. C., Barenstedt C., Karlsson S.: *Polym. Degrad. Stab.* 37, 163 (1992).
- Johnson K. J., Pometto A. L., Nikolov Z. L.: *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 1155 (1990).
- Shin P. K., Jung E. J.: *J. Microbiol. Biotechnol.* 9, 784 (1999).
- Ayukawa Y., Shinya S., Kakegawa T., Ito M.: US 3625746 (1971), (C 08 B 25/02).
- Bastioli C., Bellotti V., Del Tredici G., Ponti R. (Novamont S.p.A.): US 5462981 (1995). (T091A 0849).
- Bastioli C.: *Macromol. Symp.* 135, 193 (1998).
- Chodák I.: *ICS-UNIDO Expert Group Meeting on Environmentally Degradable Polymers, Trieste, 14–16 April 1998*. Selected Papers, str. 111.
- Yudanova T. N., Skokova I. F., Aleshina E. Y., Galbraigh L. S.: *Fibre Chem.* 32, 347 (2000).
- Bechner J., Vásárhelyi-Perédi K., Fehér J., Keszler B.: *The Food Biopack Conference, Copenhagen, 27–29 August 2000*. Proceedings, Poster str. 117.
- Degli-Innocenti F., Bastioli C.: *ICS-UNIDO Expert Group Meeting on Environmentally Degradable Polymers, Trieste, 14–16 April 1998*. Selected Papers, str. 35.
- Gartiser S., Wallrabenstein M., Stiene G.: *J. Environ. Polym. Degrad.* 6, 159 (1998).
- Ratajska M., Boryniec S.: *Polym. Adv. Technol.* 10, 625 (1999).

29. Ratajska M., Boryniec S., Wilczek A., Szadkowski M.: *Fibres & Textiles in Eastern Europe, 1998 Juli/September*, 41 (1998).
30. Lim S. W., Jung I. K., Lee K. H., Jin B. S.: *Eur. Polym. J.* 35, 1875 (1999).
31. Otaigbe J. U., Goel H., Babcock T., Jane J.: *J. Elastom. Plast.* 31, 56 (1999).
32. Kenawy E. R., Cinelli P., Corti A., Miertus S., Chiellini E.: *Macromol. Symp.* 144, 351 (1999).
33. Alexy P., Bakoš D., Kolomazník K., Javoreková S., Podstránska G., Kršiak M., Matej M.: *Proceedings of International Workshop on Environmentally Degradable Plastics, Smolenice, 4–8 October 1999*, str. 76.
34. Crkoňová G., Alexy P., Bakoš D., Kolomazník K., Šimková B.: *Proceedings of 14<sup>th</sup> Bratislava International Conference on Modified Polymers, Bratislava, 1–4 October 2000*, Poster No. P31, str. 129.
35. Lešínský D., Alexy P., Bakoš D., Kolomazník K., Javoreková S.: *Proceedings of the Food Biopack Conference, Copenhagen, 27–29 August 2000*, str. 96.
36. Crkoňová G., Alexy P., Bakoš D., Kolomazník K., Šimková B., Precnerová L.: *Macromol. Symp.* 170, 51 (2001).
37. Křesálková M., Kupec J., Kolomazník M.: *Plasty Kauc.* 38, 295 (2001).
38. Křesálková M., Hnaníčková L., Kupec J., Kolomazník K., Alexy P.: *J. Am. Leather Chem. Assoc.* 97, 143 (2002).
39. Klason C., Kubat J.: *Plast. Rubber Process. Appl.* 6, 17 (1986).
40. Kharade A. Y., Kale D. D.: *J. Appl. Polym. Sci.* 72, 1321 (1999).
41. Alexy P., Košíková B., Podstránska G.: *Polymer* 41, 4901 (2000).

**J. Kupec, K. Charvátová, and M. Křesálková** (*Department of Environmental Technology and Chemistry, Faculty of Technology, Tomáš Baťa University, Zlín*): **Biopolymers as Fillers in Plastics**

The review deals with blends of biopolymers and plastics and their biodegradability in environment. Starch and waste proteins are most frequently used as biodegradable materials, while polyolefins and poly(vinyl alcohol) serve as plastics. The use of these blends is an important way of the preparation of environmental-friendly materials.

# MEMBRÁNOVÉ TECHNOLOGIE A VODNÍ HOSPODÁŘSTVÍ – VYBRANÉ OTÁZKY A NOVĚ PUBLIKOVANÉ INFORMACE

JAROSLAV PŘIDAL

Mikropur, s.r.o., Wonkova 385, 500 02 Hradec Králové 2  
e-mail: pridal@mikropur.cz

Došlo 8.1.02, přepracováno 14.2.02, přijato 14.2.02.

Klíčová slova: vodní hospodářství závodů, recyklace provozních vod, membránové separace, zpětný proplach, keramické membrány

## Obsah

1. Úvod
2. Nové membrány
3. Zanášení membrán – vývoj techniky zpětného proplachu
4. Aplikace membránové technologie při recyklaci průmyslových vod
  - 4.1. Keramické membrány pro zpracování odpadních vod v chemickém průmyslu
  - 4.2. Recyklace vody při výrobě kovových (měděných) pásů a drátů
  - 4.3. Vodní hospodářství v chemickém závodě
  - 4.4. Čištění vod ze zpětného proplachu filtru v bazénech zábavních parků reverzní osmózou na modulech s plochými membránami

## 1. Úvod

V minulém článku publikovaném v Chemických listech<sup>1</sup> byly popsány základní vlastnosti tlakově hnáných membránových separačních postupů, jejich definice a dělení, nejběžnější typy průmyslově užívaných membránových modulů a několik aplikací z výroby pitné a průmyslové užitkové vody.

Předmětem tohoto článku, jehož terminologie navazuje na článek předchozí, jsou informace získané z velké části ze světových konferencí o separaci (Světový kongres filtrace WFC 8 v Brightonu v dubnu 2000 a konference Filtech Europa v Düsseldorfu v říjnu 2001), které by mohly zajímat čtenáře, popř. inspirovat pracovníky v průmyslu k úvahám o dosažení úspor v českých podnicích zaváděním membránových separačních postupů.

## 2. Nové membrány

Univerzitou Rouen ve Francii<sup>3</sup> byly avizovány nové asymetrické membrány z polysulfonu určené pro nanofiltraci kapalin, které jsou vhodné pro částečnou deionizaci vody. Rejekce dvoumocných kationtů ( $\text{Ca}^{2+}$ ) je v rozmezí 80–95 %,

zatímco rejekce typických monovalentních kationtů ( $\text{Na}^+$ ) je díky negativnímu náboji membrány pouze asi 10 %.

Dynamičtější se zdá být vývoj v oblasti keramických membránových struktur. V Holandsku vznikly aktivity spojené s výrobou keramických membrán s aktivní vrstvou na vnějším povrchu ve společnosti ENC v Pettenu a rovněž jsou vyvíjeny keramické membrány s očekávaným minimálně dvojnásobným výkonem oproti současnosti ve společnosti Pervatech v Aarnheimu. Oba typy membrán budou sloužit pro pervaporaci kapalin.

Keramické voštinové konstrukce, které byly používány více než 25 let jako nosiče katalyzátorů v automobilovém průmyslu, se adaptují pro průmyslovou ultrafiltraci a nanofiltraci. Některé kanály jsou upraveny tak, aby odváděly permeát. Keramické struktury nazývané DuraMem<sup>TM</sup> vyrobené z vysoce čistého karbidu křemíku jsou vyráběny v rozměrech: průměr 25,4–144–254–285 mm a délka 0,3–0,86–1,0 m firmou CeraMem Corporation v USA (cit.<sup>4</sup>), zatímco keramické struktury z mullitu ( $3 \text{ Al}_2\text{O}_3 \cdot 2 \text{ SiO}_2$ ) voštinové konfigurace (průměr 142 mm, délka 864 mm) byly prezentovány rok nato společností Corning z německého Wiesbadenu<sup>5</sup>. Díky velkému počtu kanálů přibližně čtvercového průřezu o straně 2 mm se zde dosahuje vysoké koncentrace filtrační plochy. Tyto keramické membrány jsou již označovány jako cenově srovnatelné s membránami polymerními.

## 3. Zanášení membrán – vývoj techniky zpětného proplachu

Nejzávažnější nevýhodou membránových postupů je postupné snižování výkonu membrán způsobené jejich zanášením. Bylo proto navrženo velké množství způsobů, jak tento jev co nejvíce omezit, např. prostřednictvím tangenciální rychlosti, přepážek a různých turbulizátorů, mechanického a chemického čištění, pulzace tlaku, systémů dosahujících zvýšeného smykového napětí na membráně (vibrace, ultrazvuk). Neúčinnější metodou se stále jeví zpětný proplach, kdy tok permeátu přes membránu periodicky mění svůj smysl, protože nevyžaduje vysoké energetické náklady a poměrně jednoduše se technicky zvládá. Jako základní prostředek proti zanášení je tato metoda soustavně zdokonalována.

### Délka a frekvence zpětných pulzů

Pro snížení ztrát permeátu i času při zpětném proplachu a rovněž pro lepší odstranění tuhých látek ulpělých na membráně bylo již dříve doporučeno aplikovat zpětný proplach v několika diskrétních pulzech, které dohromady činily při jednom proplachu řádově desítky sekund a byly opakovány vždy jednou za několik desítek minut<sup>6</sup>. Později bylo referováno o stále kratších a kratších dobách zpětného proplachu; typické hodnoty byly 1–5 sekund s frekvencí 1–10× za minutu. V tomto režimu se stále ztrácí asi 10–20 % času na zpětný proplach. Ještě kratší doby tzv. zpětných šoků v řádu desetin sekundy (typicky 0,1 s) byly doporučeny a ověřeny jako

účinné Wentenem<sup>7</sup>, který aplikoval takové šoky každých 1–5 sekund při separaci proteinů na asymetrické membráně umístěné opačně, tzn. otevřenou stranou k retentátu a aktivní vrstvou k permeátu. Membránou byla polymerní dutá vlákna s aktivní vrstvou s póry 0,6  $\mu\text{m}$  na vnějším povrchu a suportem s póry 20  $\mu\text{m}$  na vnitřní straně.

Ještě kratší zpětné šoky v délce 50 ms s typickou frekvencí 0,2 Hz (interval mezi šoky 5 sekund) použil Hérán<sup>8</sup>. Separoval suspenzi 1  $\text{g.l}^{-1}$  bentonitu na 0,2  $\mu\text{m}$  membráně v normální poloze, to znamená aktivní vrstvou směrem k retentátu, a dosáhl prakticky 100 % obnovu výkonu membrány, který byl 4–8 $\times$  vyšší než bez zpětných proplachů. Ztráty času a permeátu zde již činí řádově pouze jednotky procent.

#### Kombinace zpětného proplachu s dalšími postupy

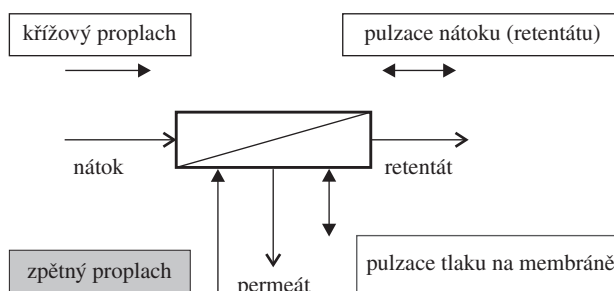
Zpětné proplachy (permeátem) byly studovány v kombinaci s proplachy tangenciálními (retentátem), dále v kombinaci s pulzacemi toku retentátu a v kombinaci s pulzacemi tlaku ZP. Schematicky jsou takové postupy vyznačeny na obr. 1.

Tangenciální proplachy se ukazují jako účinné zejména při tzv. přímé (dead-end) ultrafiltraci vody, kdy základním způsobem je přímá filtrace přes membránu a křížový tok (cross-flow) se uplatňuje vlastně jen při proplachu, což vede k velkým úsporám energie pro pohon čerpadel. Kombinace zpětného proplachu s předcházejícím nebo následným tangenciálním proplachem, jakož i v kombinaci s pulzacemi tlaku zpětného proplachu a pulzacemi toku retentátu se ukázala téměř vždy účinnější než samostatný zpětný proplach<sup>9–11</sup>. Výzkumy se týkaly jednak velmi rychlých podsekundových pulzů s frekvencí vyšší než 1 Hz, resp. délkou pulzu ve zlomcích sekundy<sup>10,11</sup>, jednak klasických režimů nadsekundových s délkou zpětného proplachu v minutách, resp. délkou tangenciálního proplachu 5 sekund<sup>9</sup>.

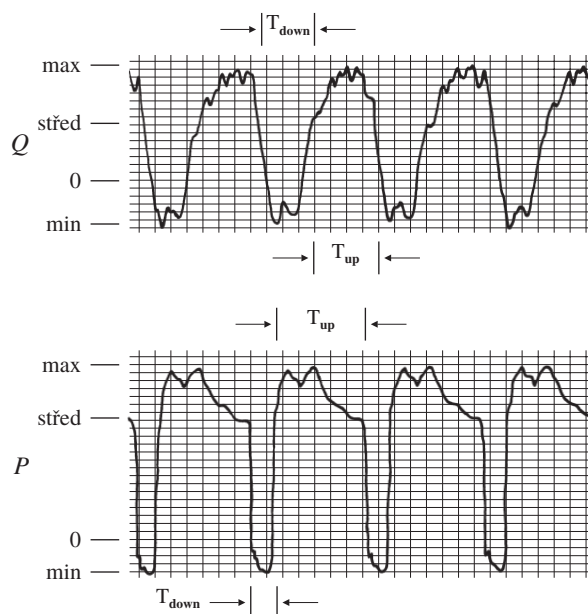
Zajímavého účinku se podařilo dosáhnout při mikrofiltraci (suspenze 5  $\text{g.l}^{-1}$  kvasnic ve vodě na keramické membráně Millipore GL 0,2  $\mu\text{m}$ ), kdy tok nad membránou byl periodicky přerušován s frekvencí 6,3–6,8 Hz pomocí pružné trubice zařazené do potrubí před membránový modul<sup>10</sup>. Mechanismus zvýšení výkonu membrány tímto pulzujícím tokem nátoku (retentátu) se vysvětluje několika způsoby, mezi nimiž je i zpětný proplach. Jak je vidět z obr. 2, objevuje se při každém cyklu krátký okamžik zpětného proplachu, který je však způsoben nikoliv klasickými prostředky zpětného proplachu, ale vlivem pulzace retentátového toku. Protože zařízení na oscilace retentátu má jedinou pohyblivou součástku – flexibilní hadici, která je stlačována buďto tlakem vzduchu nebo tlakem kapaliny, je tento způsob nadějný pro průmyslovou aplikaci.

## 4. Aplikace membránové technologie při recyklaci průmyslových vod

Vzhledem k neustále vzrůstajícím nákladům na zneškodňování odpadních vod a stále rostoucím cenám pitné vody se stává velmi zajímavým vyvíjení systému na recyklaci a zpětné použití průmyslové vody. V tomto oboru hrají dnes membránové technologie významnou roli díky specifickým vlastnostem, které tyto technologie mají. Membránové procesy jsou nejen snadné z hlediska obsluhy, snadné pro změnu



Obr. 1. Techniky zpětného proplachu



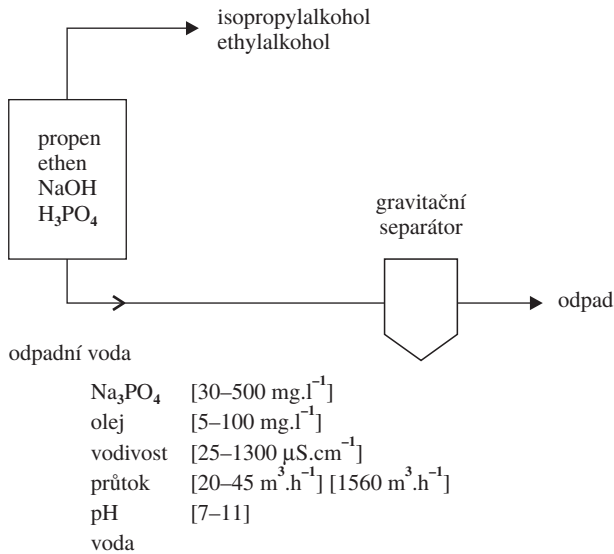
Obr. 2. Pulzující tok v prostoru nad membránou ( $Q$ ) a průběh tlaku na membráně ( $P$ ); v intervalech, kde  $P < 0$ , dochází ke zpětnému proplachu

měřítka procesu díky svému modulárnímu charakteru, ale jak bude vidět z několika dalších uvedených příkladů, mají i další přednosti. Keramické membrány je dnes možno přímo použít na separaci horkých vod (šetří se náklady na chlazení), poslední režimy membránových operací, jako jsou přímá ultrafiltrace nebo nízkotlaká reverzní osmóza, již dělají membránové separace z hlediska energetického ještě více konkurenceschopnými než dříve. Detailnější informace mohou být získány z následujících příkladů, které popisují membránové procesy používané v chemickém a strojírenském průmyslu.

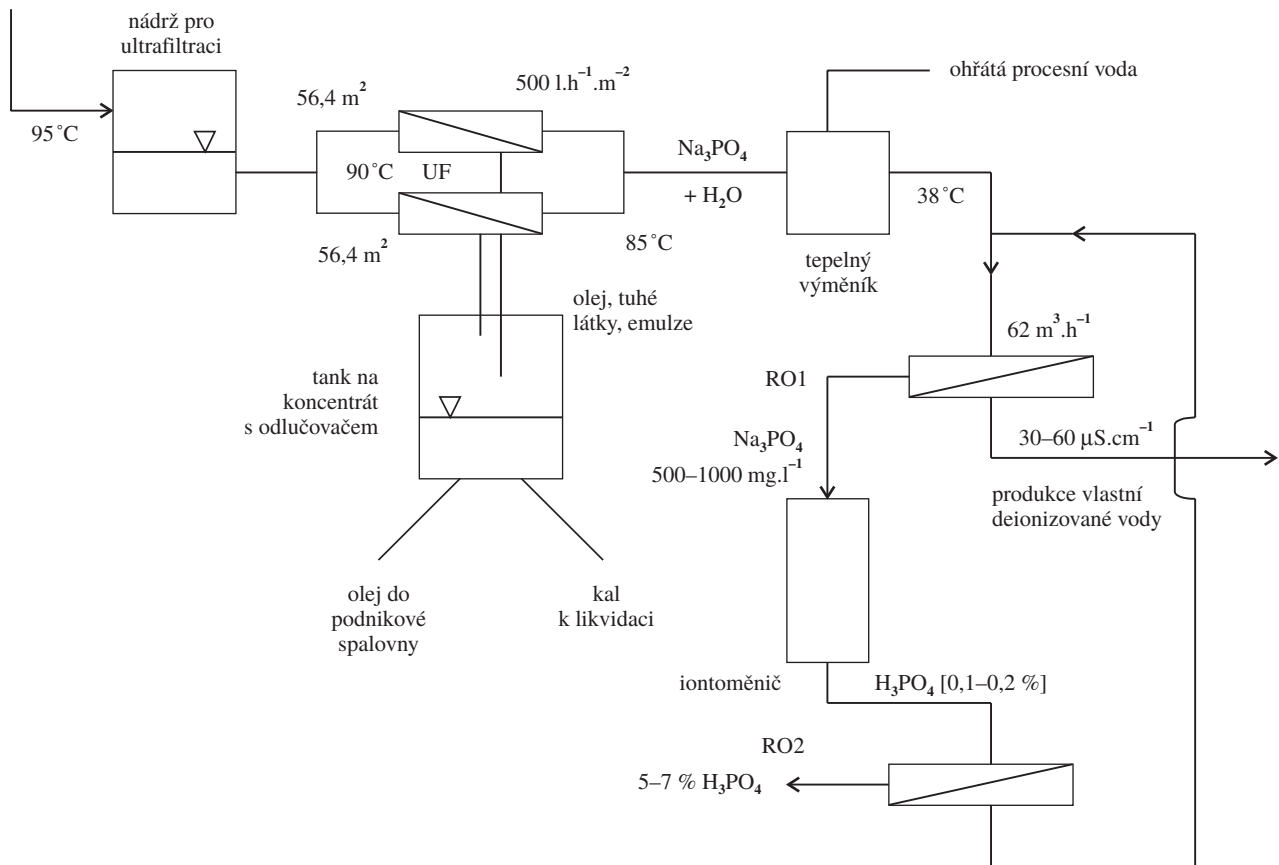
### 4.1. Keramické membrány pro zpracování odpadních vod v chemickém průmyslu

Filtrace horkých kapalin je obzvláště zajímavou aplikací pro keramické membrány, protože na nich lze filtrovat velká množství kapalin za provozní teploty a bez potřeby chlazení. Příkladem je recyklace procesních vod (s teplotou i nad 80  $^{\circ}\text{C}$ ), které lze čistit s vysokým výkonem membránovými operacemi.

Následující odstavce popisují čištění odpadní vody o teplotě 80–90 °C, která vzniká během výroby isopropylalkoholu. Řešení bylo navrženo německou firmou Atech Inovations



Obr. 3. Klasické schéma výroby isopropylalkoholu, resp. ethylalkoholu



Obr. 4. Výroba isopropylalkoholu/ethylalkoholu s použitím membránové techniky; UF – ultrafiltrace, RO1, RO2 – reverzní osmóza

z Gladbecku<sup>13</sup>. Průtok odpadní vody je přibližně 65 m<sup>3</sup>.h<sup>-1</sup>. Při výrobě isopropylalkoholu/ethylalkoholu chemickou syntézou se krakuje propylen s ethylenem za přítomnosti H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, která působí jako katalyzátor. Přidává se louh sodný. Výsledkem je, že směs reaguje s kyselinou fosforečnou za tvorby fosforečnanu sodného Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (viz obr. 3). Potom následuje destilace a získává se alkohol. Odpadní voda z tohoto procesu obsahuje hlavně Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, vodu a uhlovodíky z procesu krakování a zbytky alkoholu. Tyto vody byly dříve zpracovávány ve zmíněném závodě v množství 1560 m<sup>3</sup>.den<sup>-1</sup> hlavně na gravitačním separátoru a následně byly odváženy k likvidaci. V dalším je popsán koncept procesu, v němž lze uzavřít vodní cyklus (viz obr. 4). Tato procesní technologie se skládá z ultrafiltračního stupně, v němž jsou použity vícekanálové keramické membrány, dvou reverzně osmotických jednotek se spirálně vinutými moduly a jedné jednotky iontoměničové. Tímto procesem lze docílit téměř uzavřeného vodního cyklu a používat filtry (permeáty k výrobě deionizované vody) nebo používat koncentráty pro výrobu páry. Stupeň recyklace je více než 90 %, což odpovídá přibližným úsporám čisté vody ve výši 60 m<sup>3</sup>.h<sup>-1</sup>.

#### 4.2. Recyklace vody při výrobě kovových (měděných) pásů a drátů

Výroba poloproductů z mědi a slitin mědi, jako jsou pásy a dráty, válcováním za studena většinou vyžaduje velké množství vody<sup>14</sup>. Po každém žihacím (chladicím) stupni je materiál

mořen a jeho povrch je mechanicky čištěn na kartáčovací stoli. Přitom se používá velké množství vody, kterým se oplachuje povrch od částic vznikajících při broušení povrchu. V současné době jsou tyto oplachové vody zpracovávány společně s ostatními odpadními vodami z továrny v centrální čistírně odpadních vod za použití neutralizace, srážení, flokulace a filtrace na pískových filtrech. Část těchto vod lze recyklovat po smíchání s čistou vodou. Odlišný koncept založený na přímé ultrafiltraci a nízkotlaké reverzní osmóze vykazuje úspory až 70 % čisté vody.

#### Čištění odpadních vod přímou ultrafiltrací

Při tomto procesu se na ultrafiltrační membráně díky jejím velmi malým pórům 0,001–0,005  $\mu\text{m}$  (200 daltonů) odstraňují veškeré suspendované částice. Voda vycházející z kartáčovacího stroje má nízký obsah tuhé fáze, proto byl místo konvenčního způsobu křížové ultrafiltrace použit nejnovější způsob přímé ultrafiltrace.

Je známo, že při přímé ultrafiltraci je výtěžnost čisté vody vysoká, protože téměř veškerá vytékající voda prochází membránou. Jde o levný membránový separační postup. Množství vody, které je zapotřebí pro čištění membrán křížovým tokem činí asi 5 % celkového natékajícího množství vody. Vysoký průtok membránou byl zajištěn automatickým oplachovým a čisticím režimem.

Přímá ultrafiltrace byla úspěšně aplikována ve vodním hospodářství při přípravě pitné vody včetně dezinfekce povrchových vod a při získávání pitné vody ze zpětných proplichů vodárenských filtrů. Jiná významná aplikace přímé ultrafiltrace je čištění odpadních vod v čistírenském procesu v čistírkách odpadních vod. V popisovaném případě byla přímá ultrafiltrace poprvé použita v kovozpracovatelském průmyslu. Poloprovozní jednotka pro automatický samostatný provoz byla vybavena dvěma kusy modulu XIGA s kapilárními membránami o ploše 15  $\text{m}^2$  a se zásobníkem pro 1  $\text{m}^3$  kapaliny. Data, která byla získána během ročního zkušebního provozu poloprovozní jednotky, sloužila jako základ pro návrh provozního zařízení.

#### Odsolování nízkotlakou reverzní osmózou

Další krok optimalizace vodního hospodářství vedoucí k úspoře nákladů spočíval ve zkoumání efektu odsolování částí nebo celého proudu technologické vody v místních smyčkách za účelem snížit celkovou spotřebu vody o dalších 15–20 %. Jak již bylo zmíněno, čerstvá voda je zapotřebí zejména proto, aby byla regulována koncentrace solí.

Po rozsáhlých zkouškách byla vybrána technologie nabídnutá firmou ROCHEM z Hamburгу. Jednotky tohoto výrobce, které jsou v současné době prodávány, jsou vybaveny moduly FM (flat membrane) s plochými membránami pro nízkotlakou reverzní osmózu. Tento modul obsahuje membránové obálky ve tvaru skutečné obdélníkové poštovní obálky s otevřenými retentátovými kanály, což umožňuje vysokou efektivitu čištění a nízké energetické náklady.

Poloprovozní výzkumy na popsáných jednotkách umožnily rozhodnout o nasazení membránové technologie v provozním měřítku za účelem snížení spotřeby čisté vody, zmenšení objemu odpadních vod, snížení spotřeby chemikálií, minima-

lizace výrobních nákladů a zajištění vysoké kvality výrobků. Při prvním kroku – instalaci průmyslové ultrafiltrace, který proběhl v německém závodě Wieland-Werke AG v Langenbergu – se dosáhlo snížení spotřeby vody o 70 %.

#### 4.3. Vodní hospodářství v chemickém závodě

Závod firmy DuPont v Hamm-Uentrop v Německu kupuje ročně 800 000  $\text{m}^3$  vody pro potřeby výroby vláken a plastů. Po procesu a vyčištění ve vlastní biologické čistírně odpadních vod se 600 000  $\text{m}^3$  této vody vypouští do řeky. Při nově navrženém procesu<sup>15</sup> dochází k úspoře 90 % této vody.

Jádrum technologie je kombinace tří nových postupů:

- změněný proces AAA (alternating aerobic anoxic) pro odstraňování dusíku a fosforu z odpadní vody,
- membránový systém pro snížení obsahu tuhých částic a mikrobiálních zárodků,
- reverzní osmóza ke změkčování vody a snížení obsahu nitrátu, sulfátu a chloridu.

Ultrafiltrační stanice je rozdělena do 4 oddělených linek pracujících paralelně na principu přímé ultrafiltrace. Srdcem každé jednotky je zcela nově koncipovaný modul s dutými vlákny (polyethersulfon, velikost pórů 0,01  $\mu\text{m}$ ). Aby se dosáhlo konstantního toku retentátu a rovněž stabilního transmembránového tlaku, jsou membrány proplachovány permeátem v pravidelných intervalech tangenciální rychlostí, která je 5× vyšší než při filtraci. Jako část ultrafiltračního postupu byla vyvinuta také metoda efektivního zpětného proplachu, která zamezuje snižování výkonu membrán zanášením chlomanem sodným. Za ultrafiltrační jednotku byl zařazen filtr s aktivním uhlím, aby byly zachyceny zbývající rozpuštěné organické látky.

Permeát z filtru s aktivním uhlím je před přivedením do reverzně osmotické jednotky upraven procesní vodou ze zásobního tanku (regulace vodivosti). Dále je zařazena UV sterilizace sloužící k odstraňování bakterií, které by jinak ovlivňovaly činnost reverzně osmotických membrán.

Pro snížení obsahu solí až na úroveň požadovanou normou na pitnou vodu byla zařazena dvoustupňová reverzně osmotická jednotka. Dvoustupňová jednotka má opět 4 oddělené linky s novými spirálně vinutými moduly s nízkým zanášením. Membrány jsou čištěny a propírány automaticky z centrální

Tabulka I  
Dopady na životní prostředí dosažené aplikací membránových postupů

Parametry	Membránové technologie		Výsledný účinek [%]
	nepoužity	použity	
Nákup vody, $10^3 \text{ m}^3 \cdot \text{rok}^{-1}$	800	260	-67
Množství odpadní vody, $10^3 \text{ m}^3 \cdot \text{rok}^{-1}$	600	60	-90
CHSK, $\text{t} \cdot \text{rok}^{-1}$	25,3	3,0	-88
Anorganický dusík, $\text{t} \cdot \text{rok}^{-1}$	18,5	7,5	-60
Fosfor, $\text{t} \cdot \text{rok}^{-1}$	0,6	0,2	-67
Rozpustné soli, $\text{t} \cdot \text{rok}^{-1}$	390,8	280,6	-28

jednotky. Reverzní osmotická stanice je řízena podle koncentrací z výtěžkem cca 90 % při pracovním tlaku 16 barů.

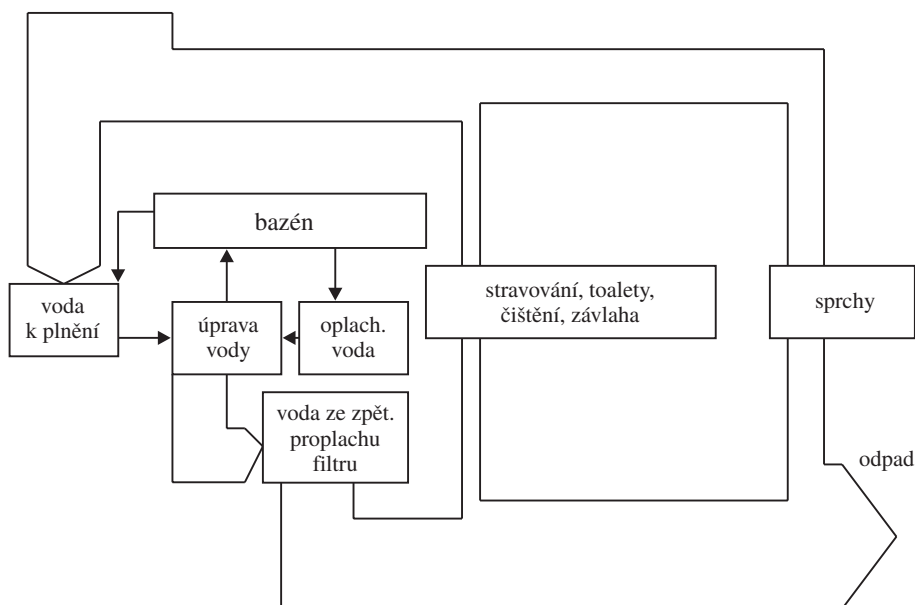
V tabulce I jsou shrnuty významné dopady na prostředí, kterých bylo dosaženo.

#### 4.4. Čištění vod ze zpětného proplachu filtru v bazénech zábavních parků reverzní osmózou na modulech s plochými membránami

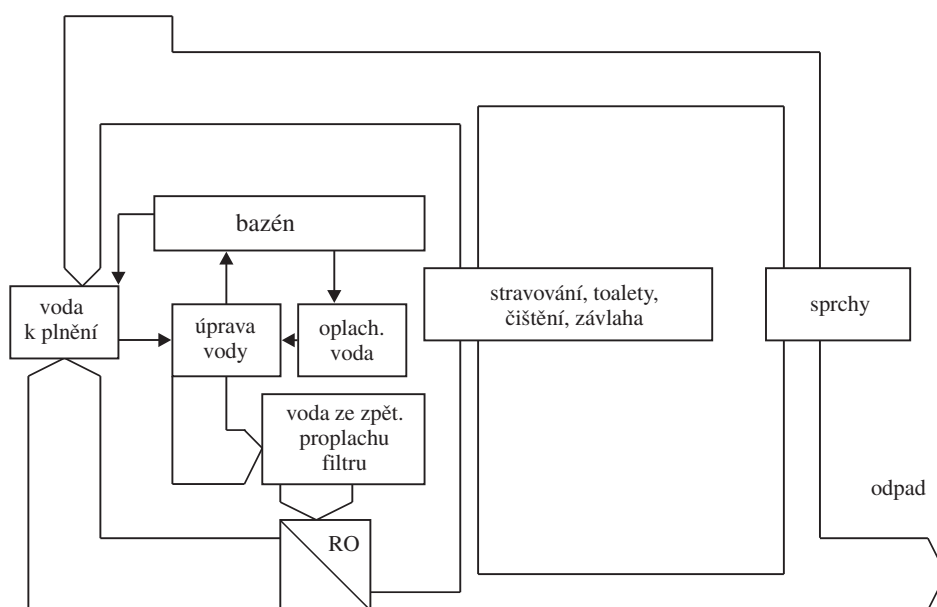
Alternativou běžného čistícího procesu u plaveckých bazénů v zábavních parcích je dnes nový postup zahrnující

reverzní osmózu<sup>16</sup>. Byl vybrán proces nízkotlaké reverzní osmózy, protože tímto způsobem lze odstraňovat bakterie, drobné suspendované částice, viry, rozpuštěné organické látky a močovinu. Takto vyčištěná voda ze zpětného proplachu se může vracet na vstup jako voda pro plnění bazénů. Vzniklé úspory jsou jednak v nižší spotřebě pitné vody na plnění bazénů a v nižším objemu odpadní vody, která se vypouští do kanalizace, a dále v nižších energetických požadavcích na ohřev doplňkové vody na vstupu do bazénu.

Membrány pro nízkotlakou reverzní osmózu umožňují provoz za nízké spotřeby energie. Ekonomické výkony na permeátu jsou kolem  $20 \text{ l} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$  s typickou spotřebou energie



Obr. 5. Klasické vodní hospodářství bazénu



Obr. 6. Vodní hospodářství bazénu po optimalizaci



2,3 kWh.m<sup>-3</sup> za tlaku pod 1,5 MPa. Nejvyšší dovolená teplota činí 40 °C, pH 2–11, při krátkodobém čištění pH 1–13.

Ze schématologií bez membrán a s použitím reverzní osmózy na obr. 5 a 6 je patrné, že došlo k úspoře cca 80 % objemu vod na zpětný proplach filtrů. Návratnost investice do jednotky reverzní osmózy je 1,9 roku.

*Autor děkuje MŠMT za udělení grantu INGO LA003 z jehož zdrojů byla spolufinancována účast autora na konferencích, které poskytly většinu uvedených informací.*

#### LITERATURA

1. Přidal J.: Chem. Listy 93, 432 (1999).
2. Brown P. J.: *Proceedings of World Filtration Congress 8, Brighton, April 3–7, 2000*, str. 221.
3. Blanco J. F.: *Proceedings of World Filtration Congress 8, Brighton, April 3–7, 2000*, str. 657.
4. CeraMem Corporation: *World Filtration Congress 8, Brighton, April 3–7, 2000*. Delegate Manual, str. 74.
5. Schroder K. J.: *Proceedings of Filtech Europa, Düsseldorf, October 16–18, 2001*, str. 284.
6. Hillis P.: *Desalination 118*, 197 (1998).
7. Wenten I. G.: *Filtration and Separation 32*, 252 (1995).
8. Héran M.: *ECCCE2 – CD Proceedings, Montpellier, October 5–7, 1999*.
9. Kennedy M.: *Desalination 118*, 175 (1998).
10. Hadzismajlovic D. E.: *J. Membr. Sci. 163*, 123 (1999).
11. Jones W. F.: *J. Membr. Sci. 157*, 199 (1999).
12. Wakeman R. J.: *Proceedings of World Filtration Congress 8, Brighton, April 3–7, 2000*, str. 445.
13. Boldman P.: *Proceedings of Filtech Europa, Düsseldorf, October 16–18, 2001*, str. 776.
14. Kobocken H. U.: *Proceedings of Filtech Europa, Düsseldorf, October 16–18, 2001*, str. 770.
15. Keller K., Staud E.: *Proceedings of Filtech Europa, Düsseldorf, October 16–18, 2001*, str. 306.
16. Peters T. A.: *Proceedings of Filtech Europa, Düsseldorf, October 16–18, 2001*, str. 321.

#### **J. Přidal (Mikropur Ltd., Hradec Králové): Membrane Technology and Water Management – Recent Trends and Information**

The role of membrane technologies in industrial water recycling as well as in potable water production from sea water is steadily increasing due to specific advantages of membrane separation processes (MSP). Ceramic membranes of new types permanently extend the application field of MSP and robust and resistant ceramic structures become price-competitive with polymeric membranes. The performance decline due to fouling of membranes is minimized by new techniques of backshocks, crossflushing and pressure pulsation. With some procedures of backshocks as short as 50 ms, the flux restoration with inorganic suspensions tends to 100 %. Savings of industrial water as large as 60 – 90 % have been achieved in various industry branches by implementation of membrane separation processes of dead-end ultrafiltration, nanofiltration or reverse osmosis.

## LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

### KONTINUÁLNÍ STANOVENÍ STOPOVÝCH KONCENTRACÍ AMONIAKU VE VZDUCHU

MARTIN DOBŠÍK, PAVEL MIKUŠKA  
a ZBYNĚK VEČERA

Ústav analytické chemie, Akademie věd České republiky, Ve-  
veří 97, 611 42 Brno  
e-mail: mikuska@iach.cz

Došlo 2.1.02, přepracováno 20.9.02, přijato 8.10.02.

Klíčová slova: amoniak, denuder, předkoncentrace, monito-  
rování, vzduch

### Úvod

Amoniak je v ovzduší dominujícím plynem zásadité po-  
vahy, který má zásadní vliv na acidobazickou rovnováhu  
biosféry. Amoniak se podílí také na vzniku aerosolů, význam-  
ně ovlivňujících zemské klima<sup>1,2</sup>. Vyšší koncentrace amon-  
niaku poškozují sliznici, dráždí horní cesty dýchací a plíce,  
ztěžují ventilaci plic a zhoršují choroby cest dýchacích<sup>3</sup>.

Největší množství amoniaku (99 %) se dostává do ovzduší  
při biologickém rozkladu organické hmoty, především z od-  
padů domestikovaných zvířat a hnojení polí, a při redukci  
dusitanů a dusičnanů<sup>4</sup>. Dalšími zdroji jsou průmyslové odpa-  
dy, chemický průmysl (především výroba průmyslových hno-  
jiv a močoviny) a doprava. Odhaduje se, že až 80 % globálních  
emisí amoniaku je antropogenního původu<sup>5</sup>.

Kvůli škodlivému vlivu amoniaku na životní prostředí je  
nutné mít k dispozici spolehlivé a citlivé metody umožňu-  
jící kontinuální monitorování obsahu amoniaku ve vzduchu.  
V současné době existuje mnoho metod pro stanovení amon-  
niaku ve vzduchu. Metody umožňující přímé stanovení amon-  
niaku ve vzduchu, jako jsou diferenční optická absorpční  
spektroskopie<sup>6</sup> nebo fotoakustická spektroskopie<sup>7</sup>, využívají  
relativně složitou a drahou instrumentační techniku, což ome-  
zuje jejich rozšíření v praxi. Podstatně větší část metod, jimiž  
lze sledovat obsah amoniaku v ovzduší, patří k metodám  
nepřímým. Starší postupy používaly tzv. metodiku na mokré  
cestě. Analyzovaný vzduch je probubláván přes tzv. impin-  
gery, kde se amoniak zachycuje ve vodném roztoku kyseliny  
sírové a poté je fotometricky stanoven indofenolovou meto-  
dou<sup>8-11</sup>. Velmi známá je Nesslerova metoda stanovení amon-  
niaku, která je založena na reakci amoniaku s tetrajodortu-  
natanem draselným a následném fotometrickém vyhodnocení  
produktu této reakce při vlnové délce 425 nm (cit.<sup>12,13</sup>).

Modernější postupy jsou založeny na zachytu amoniaku  
na impregnovaných filtrech (kyselina fosforečná (cit.<sup>14</sup>), šta-  
velová kyselina (cit.<sup>14,15</sup>)), v absorpčních trubičkách<sup>16</sup> nebo  
v difuzních denuderech<sup>8-10,14,17-19</sup> a jeho následném převede-  
ní do roztoku, kde je stanoven ve formě amonných iontů.

V difuzních denuderech byla použita pevná vrstva sorbentu  
(kyselina šfavelová (cit.<sup>14</sup>), kyselina fosforečná (cit.<sup>17</sup>), kyse-  
lina citronová (cit.<sup>18,19</sup>)). Příprava sorbentu a jeho následná  
extrakce je však časově náročná, proto při stanovení amoniaku  
v ovzduší byla často používána alternativní metodika, tzv.  
termodenudery. Stanovení amoniaku v termodenuderu<sup>19-21</sup> je  
založeno na zachytu amoniaku na pevnou vrstvu sorbentu  
(kyselina wolframová (cit.<sup>22</sup>), oxid wolframový (cit.<sup>19</sup>), oxid  
molybdenový (cit.<sup>23</sup>)). Během desorpce za zvýšené teploty  
dochází ke konverzi amoniaku na NO, který je následně  
stanoven komerčním monitorem NO<sub>x</sub>. Zásadní nevýhodou  
výše uvedených metod je diskontinuita celého procesu. Při  
kontinuálním měření amoniaku v ovzduší se v současné době  
používají tzv. denudery s pohyblivým filmem kapaliny<sup>24-26</sup>,  
ve kterých je amoniak kontinuálně převáděn do ionizované  
formy (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), případně do hydratované formy (NH<sub>3</sub>.aq) ab-  
sorpcí ve vhodné kapalině protékající denuderem. Při jejich  
detekci se většinou používá fluorescenční metoda využíva-  
jící reakci amoniaku s ftalaldehydem<sup>26-29</sup>, iontová chromato-  
grafie<sup>24,30</sup> a konduktometrie v kombinaci s přestupem amonia-  
ku přes semipermeabilní membránu<sup>25,31</sup>. Avšak pouze posled-  
ní způsob umožňuje on-line analýzu obsahu NH<sub>4</sub><sup>+</sup> v efluentu  
při současném zachování vysoké citlivosti a selektivity de-  
tekce. Relativně dlouhé transportní zpoždění (cca 15 min)  
v důsledku velkého množství absorpční kapaliny uvnitř anu-  
lusu znemožňuje použití tzv. anulárního rotujícího denuderu<sup>25</sup>  
pro rychlé sledování skokových změn koncentrace amoniaku  
v ovzduší, což je nezbytné např. při sledování distribuce  
amoniaku mezi plynnou a aerosolovou fází či při přímém  
měření koncentračních toků amoniaku v ovzduší.

V této publikaci popisujeme rychlé a kontinuální stano-  
vení stopových koncentrací amoniaku ve vzduchu. Metoda je  
založena na spojení kontinuálního zachytu plynného amon-  
niaku v „cylindrickém“ difuzním denuderu se stékajícím fil-  
mem vody a on-line analýzy „amoniakálního koncentráту“.

### Experimentální část

Schéma používané aparatury je znázorněno na obr. 1.  
Amoniak je z analyzovaného vzduchu, který je prosáván přes  
vertikálně orientovaný „cylindrický“ difuzní denuder, kon-  
tinuálně absorbován do absorpční kapaliny stékající vlivem  
gravitace po vnitřní stěně trubice denuderu. Absorpční ka-  
palina je přiváděna do denuderu v jeho horní části v množství  
200 ml.min<sup>-1</sup> a analyzovaný vzduch je nasáván do denuderu  
v protiproudu ke směru toku absorpční kapaliny objemovou  
rychlostí 1 l.min<sup>-1</sup>. Délka aktivní části denuderu je 50 cm,  
vnitřní průměr trubice je 8 mm. Amoniakální koncentrát je  
kontinuálně odebírán z denuderu ve spodní části aktivní tru-  
bice denuderu a zachycený amoniak je po alkalizaci koncen-  
trátu, transportu přes porézní polytetrafluorethylenovou mem-  
bránu a následně absorpci v proudě deionizované vody stano-  
ven konduktometricky ve formě amonných iontů.

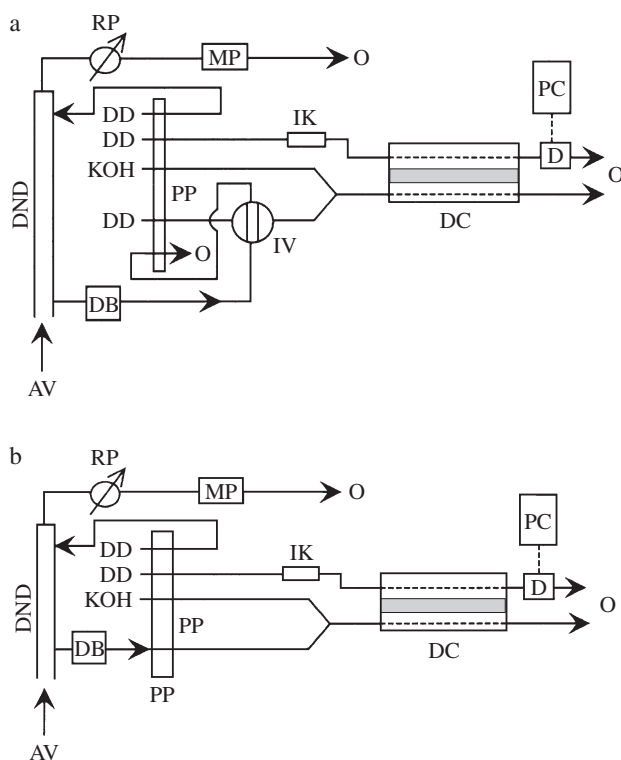
Při stanovení koncentrace iontů NH<sub>4</sub><sup>+</sup> v koncentrátu byly  
studovány dva postupy. První, metoda FIA (obr. 1a), je zalo-

žena na dávkování koncentráту pomocí dávkovací smyčky (200  $\mu\text{l}$ ) šesticestného dávkovacího ventilu do proudu deionizované vody, která je následně smíchána s roztokem 0,5 M-KOH a vzniklá směs (tzv. donor) je přiváděna do difuzní cely. Uvolněný plynný amoniak přechází v difuzní cele přes porézní teflonovou membránu a je absorbován v deionizované vodě (tzv. akceptor) proudící souběžně na opačné straně membrány. Koncentrace amonných iontů v akceptoru je stanovena konduktometricky. Druhý postup je nazván jako tzv. kontinuální analýza (KA) a spočívá v přímém kontinuálním smíchávání koncentrátu s roztokem KOH (obr. 1b). V případě postupu FIA poskytuje konduktometrický detektor diferenciální záznam (píky), zatímco postup KA poskytuje záznam integrální (tzv. vlny).

Vodivostní detektor i difuzní cely jsou termostatovány na konstantní teplotu 37 °C. Jednotlivé kapaliny jsou transportovány pomocí peristaltické pumpy (ISMATEC). Smíchávání koncentrátu s roztokem KOH probíhá v teflonovém T-kusu.

Difuzní cely pro přestup amoniaku je zhotovena z plexiskla. Kanál s akceptorovým a donorovým proudem je oddělen semipermeabilní PTFE membránou (Mitex, Millipore, tloušťka membrány 150  $\mu\text{m}$ , velikost pórů 0,5  $\mu\text{m}$ ), která zabraňuje přímému smíchání obou proudů. Geometrie obou kanálů difuzní cely je totožná (délka 40 mm, šířka 2 mm, hloubka 0,5 mm).

Účinnost záchytu  $\text{NH}_3$  v denuderu byla vyhodnocována na základě absorpce plynného amoniaku produkovaného per-



Obr. 1. Schéma aparatury pro a – FIA, b – „kontinuální analýzu“; AV – analyzovaný vzduch, MP – membránové čerpadlo vzduchu, RP – regulátor průtoku vzduchu, DND – cylindrický denuder, DB – debubbler, PP – peristaltická pumpa, IV – šesticestný injekční ventil, IK – ionexová kolona, DC – difuzní cely, D – detektor, PC – počítač, DD – deionizovaná voda, O – odpad

meační celou, který byl před vstupem do denuderu smícháván s čistým vzduchem. Produkce amoniaku byla 0,138  $\text{mg}\cdot\text{min}^{-1}$ . Při průtokové rychlosti vzduchu přes denuder 1  $\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$  odpovídá toto množství koncentraci amoniaku v plynné fázi 1,99 ppm (v/v). Při optimalizaci metody se namísto koncentrátu používaly roztoky iontů  $\text{NH}_4^+$ , a to ve formě síranu amonného.

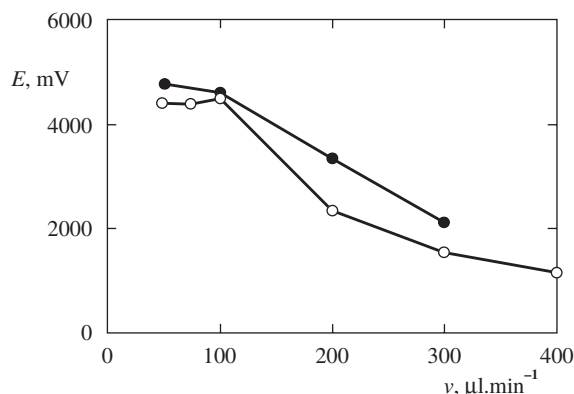
## Výsledky a diskuse

### Stanovení amonných iontů ve vodě

#### Optimalizace detekce $\text{NH}_4^+$

Oba postupy (FIA a KA) byly optimalizovány s cílem dosáhnout co nejvyšší citlivosti na obsah amonných iontů ( $\text{NH}_4^+$ ) v koncentrátu, při zachování co nejkratšího časového rozlišení. Na obr. 2 je znázorněna závislost signálu na průtokové rychlosti akceptoru. S rostoucí průtokovou rychlostí akceptoru signál klesá, což je důsledkem postupného zředování amonných iontů vzniklých protonací amoniaku po jeho přestupu přes membránu. Závislost signálu na průtokových rychlostech hydroxidu a vzorku (KA), případně deionizované vody s příslušným množstvím vzorku (FIA), vykazují maximum (obr. 3 a 4). Vliv vzájemného směru toku akceptorového a donorového proudu na velikost signálu je zanedbatelný. Průtokové rychlosti jednotlivých kapalin použité v dalších experimentech jsou určeny možnostmi peristaltických čerpadel (tabulka I).

Transport amoniaku přes membránu je ovlivněn také typem a plochou membrány pro přestup amoniaku. Testované porézní teflonové membrány od fy. Millipore s průměrem pórů 0,2  $\mu\text{m}$  a 0,5  $\mu\text{m}$  však neovlivňovaly účinnost přestupu amoniaku, a tedy velikost signálu konduktometrického detektoru. Délka kanálu pro přestup amoniaku byla v našem případě limitována rozměrem porézní membrány (průměr 47 mm) a nebyla optimalizována. Naopak hloubka kanálu ovlivňuje významně transport amoniaku mezi donorem a akceptorem. S rostoucí hloubkou kanálu signál vzrůstá, optimální hloubka kanálu je 0,5 mm.



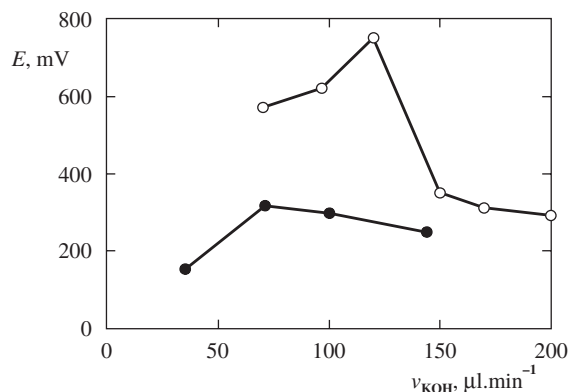
Obr. 2. Vliv průtokové rychlosti  $v$  ( $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ ) akceptoru; průtoková rychlost KOH 75  $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ , průtoková rychlost vzorku 224  $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$  (KA), 75  $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$  (FIA), koncentrace  $\text{NH}_4^+$  1.10<sup>-6</sup> mol.l<sup>-1</sup>; ● FIA, ○ KA

Analytické parametry detekce  $\text{NH}_4^+$ 

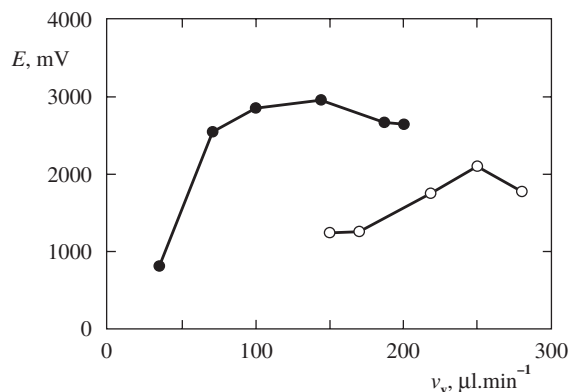
Kalibrační křivky byly měřeny pro oba postupy (FIA, KA) v koncentračním rozmezí  $3 \cdot 10^{-6}$ – $5 \cdot 10^{-8}$  mol.l<sup>-1</sup>  $\text{NH}_4^+$ . Průběh kalibračních křivek byl v obou případech lineární. Limit de-

Tabulka I  
Srovnání základních parametrů pro postupy FIA a KA

Parametr	FIA	KA
Průtok akceptoru, $\mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$	75	75
KOH, $\mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$	75	75
vzorku, $\mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$		206
deionizované vody se vzorkem, $\mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$	75	
Limit detekce $\text{NH}_4^+$ , mol.l <sup>-1</sup>	$2 \cdot 10^{-8}$	$5 \cdot 10^{-9}$
detekce $\text{NH}_3$ , ppt, v/v	100	20
Časové rozlišení, s	180	1



Obr. 3. Vliv průtokové rychlosti  $v_{\text{KOH}}$  ( $\mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$ ) KOH; průtoková rychlost akceptoru  $100 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ , průtoková rychlost vzorku  $224 \mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$  (KA),  $75 \mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$  (FIA), koncentrace  $\text{NH}_4^+$   $1 \cdot 10^{-6}$  mol.l<sup>-1</sup>; ● FIA, ○ KA



Obr. 4. Vliv průtokové rychlosti  $v_v$  vzorku (deionizované vody se vzorkem); průtoková rychlost KOH  $75 \mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$ , průtoková rychlost akceptoru  $100 \mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$ , koncentrace  $\text{NH}_4^+$   $1 \cdot 10^{-6}$  mol.l<sup>-1</sup>; ● FIA, ○ KA

tekce  $\text{NH}_4^+$ , vyjádřený kritériem 3 S/N, byl určen na  $2 \cdot 10^{-8}$  M (FIA) a  $5 \cdot 10^{-9}$  M (KA).

Časové rozlišení, tj. čas mezi dvěma po sobě následujícími signály detektoru, je 3 min pro FIA, případně 1 s pro postup KA.

Reprodukovatelnost metody byla měřena opakovaným dávkováním standardního roztoku síranu amonného u postupu FIA, případně střídavým přívodem standardu  $\text{NH}_4^+$  a slepého pokusu (deionizovaná voda) u postupu KA. Relativní směrodatná odchylka ( $n = 20$ ) byla pro postup FIA 1,3 % pro koncentraci  $\text{NH}_4^+$   $1 \cdot 10^{-6}$  mol.l<sup>-1</sup> a 0,67 % pro koncentraci  $3 \cdot 10^{-7}$  mol.l<sup>-1</sup>. Relativní směrodatná odchylka ( $n = 20$ ) pro postup KA byla 1,1 % pro koncentraci  $1 \cdot 10^{-6}$  mol.l<sup>-1</sup> a 0,4 % pro koncentraci  $3 \cdot 10^{-7}$  mol.l<sup>-1</sup>.

## Stanovení amoniaku ve vzduchu

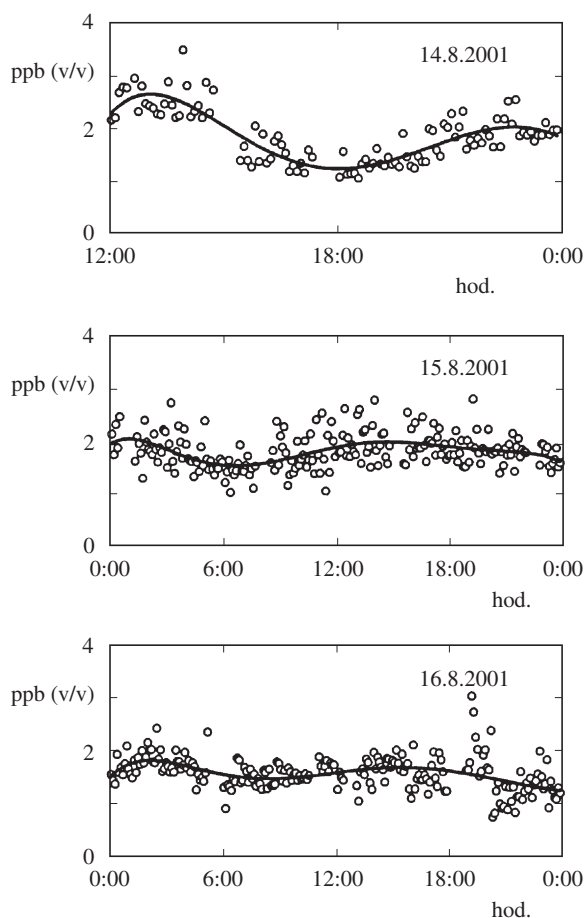
## Záchyt amoniaku v denuderu

Absorpce amoniaku v denuderu byla optimalizována s cílem zajistit maximální účinnost záchytu  $\text{NH}_3$  v absorpční kapalině. Účinnost tohoto záchytu lze popsat Gormleyovou-Kennedyho rovnicí<sup>32</sup>. Při průtokové rychlosti analyzovaného vzduchu  $1 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$  dochází k téměř kvantitativnímu záchytu amoniaku v denuderu. Záchyt amoniaku v cylindrickém denuderu se stékajícím filmem absorpční kapaliny byl studován pro různé absorpční kapaliny: deionizovanou vodu, 5 mM- $\text{KHSO}_4$  a různé pufrы v rozmezí pH 4,0–7,5. Studované kapaliny včetně deionizované vody nevykazovaly výrazné rozdíly v účinnosti záchytu amoniaku v cylindrickém difuzním denuderu. Účinnost záchytu amoniaku do těchto kapalin byla 98,0–99,5 %. Pro další experimenty byla kvůli jednoduchosti jako absorpční kapalina vybrána deionizovaná voda. Průtoková rychlost deionizované vody denuderem byla zvolena na  $200 \mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$ . Při menších průtokových rychlostech docházelo k nedostatečnému smáčení stěn denuderu, při vyšších průtocích klesá koncentrace amonných iontů v koncentrátu, a tím citlivost metody. Transportní zpoždění, tj. doba od skokové změny koncentrace amoniaku na vstupu do denuderu po změnu signálu detektoru, při použité průtokové rychlosti vody je asi 100 s, což na rozdíl od rotujícího denuderu<sup>25</sup> umožňuje rychle detegovat změny koncentrace amoniaku ve vzduchu. Limit detekce amoniaku pro  $1 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$  vzduchu a  $200 \mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$  vody je 100 ppt (v/v) pro FIA a 20 ppt (v/v) pro KA postup.

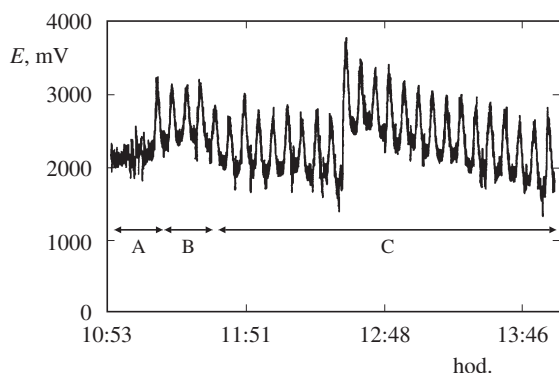
## Interference

Konduktometrická detekce je známá svou vysokou citlivostí, ale nízkou selektivitou. Vysoká selektivita popisované metody je získána separací  $\text{NH}_3$  od většiny interferujících složek (iontů, plynů) v difuzní jednotce, kde přes membránu přechází ze strany „donoru“ pouze plyny bazické povahy. Běžné plynné polutanty, jako je  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{SO}_2$  nebo ozón, neinterferují. Z plynů přítomných ve vzduchu mohou tak interferovat pouze alifatické aminy, jejichž koncentrace v ovzduší je však mnohonásobně nižší než koncentrace amoniaku i v extrémních podmínkách ustájení velkého množství užitkového skotu<sup>33,34</sup>. Pro modelovou, málo pravděpodobnou situaci, kdy je v koncentrátu přítomen triethylamin o stejné koncentraci jako ionty  $\text{NH}_4^+$  ( $2 \cdot 10^{-7}$  mol.l<sup>-1</sup>, tj. 1 ppb (v/v)  $\text{NH}_3$ )

byla naměřena 7% interference. Je zřejmé, že interferenci aminů na stanovení amoniaku předkládanou metodou lze zanedbat.



Obr. 5. Záznam monitorování amoniaku na observatoři Košetice; průtoková rychlost KOH  $75 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ , průtoková rychlost akceptoru  $75 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ , průtoková rychlost deionizované vody se vzorkem  $75 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$



Obr. 6. Záznam signálu detektoru ( $E$ , mV) během monitorování amoniaku na observatoři Košetice (14.8.2001); A – nulová linie, B – kalibrace ( $2,2 \cdot 10^{-7} \text{ M-NH}_4^+$ ), C – analýza venkovního vzduchu; podmínky – viz obr. 5

### Měření amoniaku v reálném ovzduší

Popsanou metodu lze použít nejen pro stanovení stopových koncentrací ppb (v/v) amoniaku v ovzduší, ale i při měření relativně vysokých koncentrací ppm (v/v) amoniaku v podmínkách ustájení užitkového skotu. Při sledování ppm (v/v) koncentrací amoniaku je však nutno systém kalibrovat pomocí vyšší koncentrace standardu  $\text{NH}_4^+$ , případně zvýšit průtokovou rychlost akceptoru. Výsledky měření reálného obsahu amoniaku v ovzduší nebyly porovnávány s jinými referenčními metodami, neboť metody dostupné autorům, jako je např. Nesslerova metoda, vyžadují odběr vzorku po delší časové období, a neumožňují tak přímé porovnání výsledků.

Na obr. 5 je znázorněn časový průběh obsahu amoniaku ve volném ovzduší v lokalitě Košetice, která je zařazena do monitorovací sítě AIM. Měření probíhalo 14.–16.8.2001 a při měření byl použit postup FIA. V průběhu měření převládalo teplé slunečné počasí a převážně foukal severovýchodní vítr o rychlosti  $0\text{--}5 \text{ km}\cdot\text{hod}^{-1}$ . Je zřejmé, že koncentrace amoniaku nevykazují žádný výrazný denní trend ani zvýšené hodnoty koncentrací, které by indikovaly významný zdroj emisí amoniaku v blízkém okolí této pozadové stanice ČHMÚ. Obr. 6 znázorňuje záznam signálu detektoru během monitorování 14.8.2001, a umožňuje tak přímé porovnání signálu pro nulovou linii, standard (roztok  $\text{NH}_4^+$ ) a reálný vzduch. Koncentrace standardu při kalibraci je volena dle aktuální situace tak, aby signál standardu byl srovnatelný se signálem reálného vzorku vzduchu.

### Závěr

Je popsána metoda umožňující kontinuální stanovení stopových koncentrací amoniaku ve vzduchu. Metoda je založena na prekoncentraci atmosférického amoniaku v cylindrickém difuzním denuderu do stékajícího filmu absorpční kapaliny a následné on-line analýze koncentráту s konduktometrickou detekcí. Metoda umožňuje rychlé, citlivé a selektivní stanovení amoniaku ve vzduchu. Limit detekce amoniaku ve vzduchu je 100 ppt (v/v) pro postup FIA a 20 ppt (v/v) pro postup KA detekce amonických iontů v denuderovém koncentráту.

*Auori děkují Ing. J. Šantrochovi, CSc., a RNDr. M. Váňovi, Ph.D., za jejich vstřícnost a Ing. J. Pekárkovi za ochotu a pomoc při měření obsahu amoniaku na pozadové observatoři ČHMÚ Košetice.*

*Tato práce byla podporována Grantovou agenturou Akademie věd ČR v rámci projektu IAA4031105, grantem 203/98/0943 z Grantové agentury ČR a grantem č. EVK2-CT-1999-0052 SUB-AERO of 5<sup>th</sup> Framework Program Commission of the European Communities.*

### LITERATURA

1. Charlson R. J., Schwarz S. E., Hales J. M., Cess R. D., Coakley J. A. Jr., Hansen J. E., Hofmann D. J.: Science 55, 423 (1992).
2. Seinfeld J. H., Pandis S. N.: *Atmospheric Chemistry and Physics*. Wiley, New York 1997.

3. Marhold J.: *Přehled průmyslové toxikologie*. Avicenum, Praha 1980.
4. Sutton M. A., Lee D. S., Dollard G. J., Fowler D.: *Atmos. Environ.* 32, 269 (1998).
5. Schlesinger W. H., Hartley A. E.: *Biogeochemistry* 15, 191 (1992).
6. Gall R., Perner D., Ladstätter-Weissenmayer A.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 340, 646 (1991).
7. Rooth R. A., Verhage A. J. L., Wouters L. W.: *Appl. Opt.* 29, 3643 (1990).
8. Sprenger U., Bachmann K.: *Fresenius Z. Anal. Chem.* 327, 16 (1987).
9. Schulze G., Liu C. Y., Brodowski M., Elsholz O., Frenzel W., Moller J.: *Anal. Chim. Acta* 214, 121 (1988).
10. Weatherburn M. W.: *Anal. Chem.* 39, 971 (1967).
11. Bolleter W. T., Bushman C. J., Tidwell P. W.: *Anal. Chem.* 33, 592 (1961).
12. Tetlow J. A., Wilson A. L.: *Analyst* 89, 453 (1964).
13. Rommers P. J., Visser J.: *Analyst* 94, 653 (1969).
14. Andersen H. V., Hovmand M.: *Atmos. Environ.* 28, 3495 (1994).
15. Williams E. J., Sandholm S. T., Bradshaw J. D.: *J. Geophys. Res., Atmos.* 97, 11591 (1992).
16. Thijsse T. R., Duyzer J. H., Verhagen H. L. M., Wyers G. P., Wayers A., Möls J. J.: *Atmos. Environ.* 32, 333 (1998).
17. Rosenberg C., Winiwarter W., Gregori M., Pech G., Casensky V., Puxbaum H.: *Fresenius Z. Anal. Chem.* 331, 1 (1988).
18. Zulfiquar A., Thomas C. L. P., Alder J. F.: *Analyst* 117, 899 (1992).
19. Brauer M., Koutrakis P., Wolfson J. M., Spengler J. D.: *Atmos. Environ.* 23, 1981 (1989).
20. Sigsby J. E., Black F. M., Bellar T. A., Klosterman D. L.: *Environ. Sci. Technol.* 7, 51 (1973).
21. Keuken M. P., Wayers-Ijpelaan A., Mols J. J., Otjes R. P., Slanina J.: *Atmos. Environ.* 23, 2177 (1989).
22. Braman R. S., Shelley J. T.: *Anal. Chem.* 54, 358 (1982).
23. Langford A. O., Goldan P. D., Fehsenfeld F. C.: *J. Atmos. Chem.* 8, 359 (1989).
24. Jaeschke W., Dierssen J. P., Günther A., Schumann M.: *Atmos. Environ.* 32, 365 (1998).
25. Wyers G. P., Otjes R. P., Slanina J.: *Atmos. Environ.* 27A, 2085 (1993).
26. Genfa Z., Dasgupta P. K., Dong S.: *Environ. Sci. Technol.* 23, 1467 (1989).
27. Abbas R., Tanner R. L.: *Atmos. Environ.* 15, 277 (1981).
28. Rapsomanikis S., Wake M., Kitto A. M., Harrison R. M.: *Environ. Sci. Technol.* 22, 948 (1988).
29. Aoki T., Uemura S., Munemori M.: *Anal. Chem.* 55, 1620 (1983).
30. Perrino C., Concetta M., Sciano T., Allegrini I.: *J. Chromatogr., A* 846, 271 (1999).
31. Kubáň V.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 62, 609 (1997).
32. Zdráhal Z., Mikuška P., Večeřa Z.: *Chem. Listy* 88, 353 (1994).
33. Hutchinson G. L., Mosier A. R., Andre C. E.: *J. Environ. Qual.* 11, 288 (1982).
34. Večeřa Z., Janák J., Pisca S., Rezbárik J.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 54, 341 (1989).

**M. Dobšík, P. Mikuška, and Z. Večeřa** (*Institute of Analytical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Brno*): **Continuous Determination of Trace Concentrations of Ammonia in Air**

A method for continuous determination of trace concentrations of ammonia in ambient air is described. The method is based on ammonia preconcentration in a wet cylindrical diffusion denuder and subsequent on-line effluent analysis with conductometric detection. The method provides fast, sensitive and selective determination of ambient ammonia. The detection limit of ammonia in air is 100 ppt for flow injection analysis and 20 ppt for continuous analysis of ammonia in denuder effluent.

**SPALOVÁNÍ BIOMASY V KRBOVÝCH KAMNECH – ÚČINNOST A EMISE****EVA MACHNÍKOVÁ<sup>a</sup>, MARTIN KOUTSKÝ<sup>a</sup>,  
FRANTIŠEK HRDLÍČKA<sup>b</sup> a JAN VOŠTA<sup>a</sup>**<sup>a</sup>Ústav energetiky, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28, Praha 6, <sup>b</sup>Ústav mechaniky tekutin a energetiky, České vysoké učení technické, Žitkova 4, 166 36 Praha 6

e-mail: eva.machnikova@vscht.cz

Došlo 6.1.02, přepracováno 28.6.02, přijato 12.8.02.

Klíčová slova: biomasa, spalování, emise

**Obsah**

1. Úvod
2. Základní pojmy
3. Vznik emisí
4. Experimentální část
  - 4.1. Použité palivo
  - 4.2. Spalovací zařízení
  - 4.3. Průběh měření
  - 4.4. Analytické a měřicí metody
5. Stanovení bilancí
6. Výsledky a diskuse
  - 6.1. Průběh spalování
  - 6.2. Vlastnosti paliv
  - 6.3. Spaliny
  - 6.4. Nedopal
  - 6.5. Hmotnostní a entalpické bilance
7. Závěr

**1. Úvod**

Energetickému využití biomasy je věnována mimořádná pozornost ve všech vyspělých zemích světa a ani Česká republika není výjimkou. Výrazně je podporován výzkum zaměřený na zvýšení efektivity využití biomasy a rozšíření možností jejího uplatnění. Omezené zásoby fosilních paliv vedou k hledání dalších přírodních zdrojů, aby i nadále bylo možné zajišťovat strmě narůstající trend spotřeby energie. V podmínkách České republiky je místním klíčovým zdrojem obnovitelné energie právě biomasa, která umožňuje řešit problémy regionálního rozvoje (vytváření pracovních příležitostí, využití ladem ležící půdy<sup>1</sup>) a má proti fosilním palivům i řadu ekologických výhod. Vyrovnává disharmonii obsahu CO<sub>2</sub> v ovzduší jeho spotřebou při jejich růstu. Nízký obsah síry zaručuje minimální emise oxidů síry. Naopak problémovým je obsah chloru, který má za následek vznik chlorovaných organických látek (organochlorové pesticidy, polychlorované bifenyly – PCB, polychlorované dibenzodioxiny a dibenzofurany – PCDD/F). Z nechlorovaných škodlivin jsou to polycyklické aromatické

uhlovodíky – PAH (cit.<sup>2</sup>). Je proto nutné poznat mechanismy a zákony spalovacích procesů a v maximální míře je uplatňovat. Nezodpovědné a laické provozování spalovacích zařízení může mít i v případě biomasy za následek výrazné překročení emisních limitů pro některé škodliviny<sup>3</sup>. energii z biomasy lze získávat různými způsoby termochemické, biochemické a chemické přeměny. Podle podílu na produkci energie pochází více než 70 % energie z obnovitelných zdrojů ze spalovacích procesů<sup>4</sup> ve speciálních kotlích různé konstrukce a velikosti. V poslední době je pozornost zaměřena na spalování biomasy ve fluidních kotlích<sup>5</sup> a na její zplyňování.

Cílem této práce je sledování a porovnání hmotnostní a entalpické bilance při spalování různých druhů biomasy v lokálním topeništi (krbová kamna Peletop 5.1). Dále pak posouzení naměřených emisí jak klasických, tak problematických organických škodlivin.

Práce je součástí projektu Ministerstva životního prostředí VaV 320/3/99 „Zdokonalování stávajících technologií využitím obnovitelných zdrojů a úspor energie“, etapa 02–01: Studium hmotnostních, energetických a kontaminačních toků při spalování biomasy.

**2. Základní pojmy****B i o m a s a**

Biomasa je hmota rostlinného nebo živočišného původu, která je získávána cílenou výrobní zemědělskou a lesnickou činností nebo jako vedlejší produkt či odpad z jiných výrobních činností. Biomasa rostlinného původu lze dělit na dvě hlavní skupiny:

- vedlejší a odpadní produkty např. z lesní těžby (dřevní štěpka, kůra), z dřevozpracujícího průmyslu (piliny, hobliny, odřezky), ze zemědělské výroby (obilná, kukuřičná a řepková sláma), komunální (z údržby zeleně), z potravinářské výroby (z lihovarů, cukrovarů),
- cíleně pěstované energetické rostliny nebo rychle rostoucí dřeviny např. energetické plodiny (řepka, konopí, kostřava), rychle rostoucí energetické dřeviny (vrba, topol, olše).

Dřevní hmoty lze využívat jako tradiční polínka nebo jiné kusové odpady. V této práci byl využit dřevní odpad upravený do pelet o určité velikosti přizpůsobené parametrům krbových kamen Peletop 5.1. Možnosti využití dřevní hmoty jsou dány jejími fyzikálními vlastnostmi (spalné teplo, výhřevnost), na nichž závisí chování paliva při vlastním hoření i při jeho použití pro příslušné výrobní procesy z hlediska tepelného výkonu a technologie ohřevu, a vlastnostmi chemickými (obsahy uhlíku, dusíku, vodíku, kyslíku, síry, vlhkosti, popela, hořlaviny a prchavé hořlaviny) majícími přímý vliv na výhřevnost, způsob a průběh spalování. Základem dřevních odpadů je organická dřevní hmota, kterou tvoří zdřevnatělé stěny buněk, jejichž chemickou podstatou je celuloza. Vnitřní obsah buněk tvoří bílkoviny, škrob, sacharidy, tuky, třísloviny, pryskyřice, rostlinná barviva a malé procento anorganických (nespalitelných) látek<sup>6</sup>. Pro dřevo je specifické, že mezi tuhými palivy obsahuje nejvyšší podíl pyrolýzou uvolňovaných látek (75–85 %) nehořících na roštu, ale ve vznosu mezi rostem a komínem („dlouhý plamen“ dřeva), a že má velmi nízký obsah síry a popela<sup>7</sup>.

## Spalovací proces

Spalovací proces je rychlá oxidace paliva, při které se uvolňuje tepelná energie. Rychlá oxidace je možná po zajištění dvou základních podmínek<sup>8</sup>:

- palivo musí být v dobrém styku s oxidovadlem,
- směs paliva a oxidačního činidla musí být zahřátá na zápalnou teplotu.

Spalovací proces dřeva probíhá ve čtyřech hlavních fázích:

- sušení a odpařování vody z paliva,
- pyrolýza a uvolňování plynné složky paliva,
- spalování plynné složky paliva,
- spalování tuhých látek, zejména uhlíku.

Skutečně efektivní a pro životní prostředí neškodné spalování dřeva je možné pouze ve speciálně řešených topeništích a nikoliv v energetických jednotkách konstruovaných pro jiná paliva (uhlí, koks). Při spalování dřeva velmi záleží na formě spalovaného dřeva (špalvy, polena, odřezky, štěpka, drf, piliny atd.) a na potřebném výkonu kotle<sup>9</sup>. Lokální spotřebiče na spalování dřeva a dřevního odpadu jsou v současné době v období mimořádného rozvoje díky krbům a krbovým kamnům. Krby, vyvolávající pocit pohody, jsou dnes nahrazovány moderně řešenými topeništi s prosklenou přední stěnou a dobře vyřešenou regulací množství spalovacího vzduchu. Řešení teplosměnných ploch, rozdělení spalovacího vzduchu na primární, přivedený pod rošt, a sekundární, zavedený přímo do horní části ohniště, a použití kvalitních materiálů, umožnilo výrazné zvýšení účinnosti při zachování většiny předností otevřených ohnišť. Je pozoruhodné, jakého pokroku bylo díky snaze využívat levný a obnovitelný zdroj v krátké době dosaženo, a do budoucna lze očekávat intenzivní rozšíření jejich používání stejně, jako je tomu v zemích západní Evropy, zejména i ve Skandinávii<sup>10</sup>.

## 3. Vznik emisí

Jednou z nejvýznamnějších příčin znečištění ovzduší v České republice je již dlouhodobě spalování fosilních paliv ve stacionárních spalovacích zařízeních při výrobě elektrické energie a tepla. Tato výroba je provázena emisemi oxidů síry, oxidů dusíku, tuhých znečišťujících látek obsahujících i stopové prvky (např. těžké kovy), dále emisemi těkavých organických látek a řady dalších organických a anorganických látek, které znečišťují ovzduší<sup>11</sup>. Složení spalin je závislé na složení paliv a na spalovacích podmínkách, tj. na spalovací teplotě a přebytku vzduchu. Teprve spalováním při teplotě vyšší než 760 °C se tvoří plyny bez zápachu, při teplotě nad 830 °C převládá reakce:  $2\text{CO} + \text{O}_2 = 2\text{CO}_2$ .

Uhlovodíky se oxidují nejprve na CO, přičemž doba reakce je oproti době další oxidace na CO<sub>2</sub> zanedbatelná. Při obsahu kyslíku mezi 6–16 % a při teplotě nejméně 800 °C klesne obsah CO na 200 ppm a obsah spalitelných organických sloučenin na 100 ppm (cit.<sup>12</sup>). Při nízkém přebytku vzduchu vznikají v některých částech spalovací komory oblasti bez kyslíku, ve spalinách jsou pak nespálené uhlovodíky. Obecně je přítomnost nespálených uhlovodíků následkem lokálního zhášení plamene<sup>13</sup>.

Z hlediska obsahu CO ve spalinách je také zajímavý vliv vlhkosti paliva. V případě suchého dřeva je minimalizována fáze odpařování vody, zapálení paliva probíhá velmi rychle

a hořlavé složky nestačí vyhořet. U mokrého dřeva je díky odpařovací fázi proces zapálení pozvolný a obsah CO je výrazně nižší a vyrovnaný<sup>3</sup>.

Emisím CO nelze úplně zabránit, ale lze je snížit vhodnou úpravou spalovacího zařízení a režimu spalovacího procesu.

Při spalování dřevních odpadů neunikají oxidy síry. Je to dáno minimálním obsahem síry v tomto odpadu.

Oxidy dusíku vznikají během spalování z dusíku obsaženém v palivu, ale také z dusíku, který obsahuje spalovací vzduch. Při procesu spalování vzniká především NO, obvykle více než 95 %, který se v atmosféře oxiduje na NO<sub>2</sub>. V současné době jsou známy čtyři mechanismy vedoucí ke vzniku NO<sub>x</sub>:

- tepelný NO – vzniká za velmi vysokých teplot,
- promptní NO – tvoří se z radikálů CH reagujících se vzdušným N<sub>2</sub> za vzniku HCN, který dále reaguje na NO,
- NO vznikající z N<sub>2</sub>O za přítomnosti třetí molekuly,
- vznik NO z palivového dusíku.

Tvorbu oxidů dusíku můžeme snížit zejména typem spalovacího zařízení a tvarem spalovací komory.

Uhlovodíky a saze jsou prekurzory vzniku NO<sub>x</sub>. Porozumění procesům, které vedou ke vzniku těkavých organických látek a sazí, je jedním ze základních úkolů současné ochrany ovzduší. Při spalování fosilních paliv i biomasy jsou do ovzduší emitovány látky, které v přírodě nesnadno podléhají rozkladu nebo přeměně, perzistentní organické polutanty (POP). Hlavními zástupci POP jsou chlorované organické látky – organochlorové pesticidy, polychlorované bifenylly (PCB) a polychlorované dibenzodioxiny a dibenzofurany (PCDD/F).

Nejškodlivější karcinogenní PCDD/F jsou zastoupeny 2,3,7,8-tetrachlordibenzo-1,4-dioxinem a 2,3,7,8-tetrachlordibenzofuranem. Zdrojem volného chloru pro vznik organochlorových sloučenin při spalovacích reakcích mohou být i anorganické chloridy. Tento volný chlor reaguje s částicemi uhlíku přítomnými na popílku unášeném ve spalinách<sup>2</sup>. Výrazné omezení vzniku PCDD/F při spalování vyžaduje provádět spalování odpadu při vysoké teplotě (nad 920 °C), s nízkým součinitelem přebytku vzduchu (pod 1,6), a to rovnoměrně s dokonalým promísením spalin a jejich setrvání při vysoké teplotě minimálně 2 s (cit.<sup>14</sup>). Vznikem vyšších uhlovodíků (produktů pyrolýzy) při spalování komunálních odpadů se například blíže zabývají v Institutu di Ricerca Sulle Acque v Itálii<sup>15,16</sup>.

Z nechlorovaných škodlivin se mezi POP řadí těkavé organické sloučeniny (VOC), patří sem např. benzen, toluen, xyleny, také polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH), např. naftalen, fenantren, anthracen, pyren, benzo[a]pyren<sup>17</sup>. Poslední uvedený patří mezi nejškodlivější. Tyto škodliviny mohou být také karcinogenní. Uvedené sloučeniny vznikají především za přebytku paliva a jsou důležitými prekurzory vzniku sazí<sup>18</sup>.

Emise sazí reprezentují nejen palivové ztráty, ale jsou také nepříznivé pro životní prostředí<sup>19</sup>. Strukturu sazí lze těžko popsat. Neexistuje zde zřetelný přechod mezi tuhou, kapalnou a plynnou fází. Produkty, které vznikají, se vzájemně liší obsahem uhlíku a vodíku. Navzdory této různorodosti můžeme saze charakterizovat pomocí rozdílných molárních hmotností vzniklých částic. Právě vzniklé saze sestávají z polycyklických struktur s vedlejšími řetězci s poměrem vodíku k uhlíku zhruba 1. Stárnutí sazí způsobené ohříváním vede ke



vzniku částic s vyšším obsahem uhlíku, podobných grafitu<sup>18</sup>. Vysoké tlaky a teploty zvyšují množství vznikajících sazí. Saze mohou být z hlediska škodlivosti karcinogenní samy o sobě, nebo mohou být karcinogenní částice na nich adsorbované<sup>20</sup>.

Při spalování tuhých paliv vznikají také prachové částice. Účinek těchto částic na organismus je závislý na složení, tvaru a velikosti. Částice, jejichž velikost je nad 100  $\mu\text{m}$ , se většinou do dýchacích cest nedostanou. Menší bývají zachyceny. Jejich účinek je závislý na složení a rozpustnosti v tělních tekutinách a na biologické aktivitě. Podle svého složení a adsorbovaných látek může mít prach účinky dráždivé, toxické, fibrogenní a alergizující<sup>20</sup>.

## 4. Experimentální část

### 4.1. Použité palivo

Palivem byly pelety vyrobené lisováním za vysokého tlaku bez přídavku pojiva o maximálním průměru 1 cm přizpůsobeném parametrům krbových kamen. Listnaté pelety o průměru 0,86 cm byly tvořeny pilinami z listnatých stromů včetně kůry. Směsné pelety o průměru 0,89 cm byly tvořeny pilinami z listnatých i jehličnatých stromů, ale bez kůry, proto byly světlejší a měkčí. „Americké pelety“ o průměru 0,67 cm byly neznámého složení dovezené ze Spojených států amerických. Posledním použitým palivem byly pelety z černouhelných kalů o průměru 0,70 cm.

Vzorky paliv byly číslovány takto:

- č. 1 – listnaté pelety – netříděné
- č. 2 – listnaté pelety – tříděné
- č. 3 – směsné pelety – netříděné
- č. 4 – směsné pelety – tříděné
- č. 5 – „americké pelety“
- č. 6 – pelety z černouhelných kalů

### 4.2. Spalovací zařízení

Krbová kamna Peletop 5.1 pro experiment dodal výrobce Ing. Kučera z firmy Bechyně, s.r.o. sídlící v Lánech. Kamna jsou představitelem nové generace lokálních spalovacích zařízení. Spalují speciálně vyrobené palivo, které svojí formou (lisované granule = pelety) umožňuje plně automatické dávkování šnekovým podavačem ze zásobníku do ohniště. Díky tomuto přesnému a plynulému dávkování je možno nastavit spalovací poměry. Ohniště tvoří velmi malý rošt (pod ním je umístěn popelník a nad ním výměník tepla). V zařízení jsou nainstalovány dva ventilátory s příkonem 47 W. Jeden je na odtahu spalin a druhý nasává studený vzduch z místnosti nebo z venkovního prostředí. Teplo uvolněné při spalování se odvádí ze spalovací komory nucenou konvekcí do vzduchu. V horní části kamen jsou dva termočlánky zamezující přehřátí kamen pozastavením dávkování paliva, proto je spalování diskontinuální. Na výstupu spalin je regulovatelná komínová klapka. Spaliny odcházejí komínovým odtahem o průměru 80 mm; díky nucenému odtahu se nevyžaduje přítomnost komínu. Na levé boční straně kamen je ovládací panel opatřený hlavním vypínačem, třemi světelnými kontrolkami (zelená, oranžová a červená) a vypínačem ventilátoru, který

umožňuje manipulaci v předním prostoru kamen. Schéma spalovacího zařízení je na obr. 1.

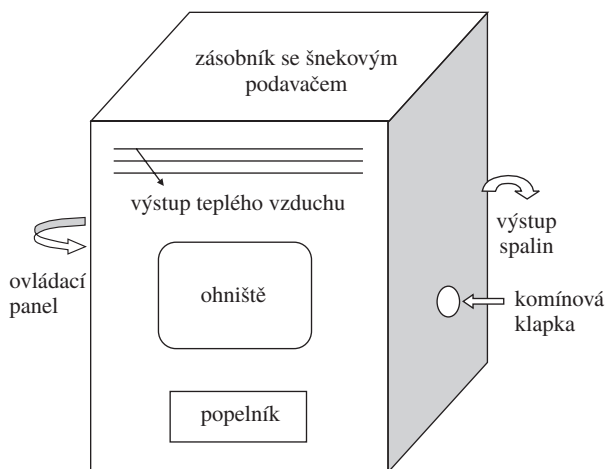
Technické parametry spalovacího zařízení (dodané výrobcem):

Tepelný výkon	5,25 kW
Tepelný výkon snížený	3,5 kW
Spotřeba paliva	0,99 $\text{kg}\cdot\text{h}^{-1}$
Spotřeba paliva – snížený výkon	0,66 $\text{kg}\cdot\text{h}^{-1}$
Výhřevnost paliva	18–20 $\text{MJ}\cdot\text{kg}^{-1}$
Obsah zásobníku paliva	24 kg
Doba pro vyhoření zásobníku	24–36 h
Teplota spalin ve výstupním hrdle	95–100 °C
Teplota na výstupu do místnosti	80–90 °C
Prívod vzduchu volitelný	z místnosti/zvenku
Hmotnost krbových kamen	85 kg
Rozměry kamen: výška	760 mm
šířka	620 mm
hloubka	530 mm
Elektrické připojení (běžná zásuvka)	230 V/125 VA

### 4.3. Průběh měření

Spalování v krbových kamnech Peletop bylo bez problémů. Obsluha zařízení byla jednoduchá a nenáročná. Palivo obsahovalo méně než 10 % vlhkosti, a proto zapalování probíhalo velmi dobře. Menší problémy byly se zapálením černouhelných kalů, které obsahovaly 30% vlhkosti. Navážené množství paliva bylo spáleno při ustáleném provozu krbových kamen, tzn. komínová klapka byla nastavena při všech měřeních stejně – otevřená z 1/4 (při úplném otevření komínové klapky dochází k vypnutí kamen). Během měření bylo regulováno pouze dávkování paliva šnekovým podavačem do ohniště označené hodnotami 1–6. Při spalování byly měřeny klasické emise ( $\text{O}_2$ ,  $\text{CO}_2$ , CO,  $\text{NO}_x$ , NO,  $\text{SO}_2$ ), tlak, teplota okolí, teplota spalin, přebytek vzduchu, komínová ztráta a účinnost spalování analyzátozem spalin Madurem GA-60. Při měření černouhelných kalů bylo nutno analyzátor spalin několikrát čistit od nanesených sazí a prachu.

Teplota ohřátého vzduchu byla měřena digitálním teploměrem. Relativní vlhkost vzduchu byla měřena vlhkoměrem. Při každém měření byl odebrán vzorek paliva a veškerý nedo-



Obr. 1. Schéma spalovacího zařízení

pal pro další stanovení. Listnaté a směsné pelety byly proměřeny dvojnásobně, a to při nastavení dávkování na hodnotu 5 a při změně nastavení dávkování od 1 do 6. Navíc ještě byly proměřeny tříděné listnaté i směsné pelety s délkou větší než 1 cm kvůli porovnání množství nedopalu, respektive pro- padu. Americké pelety i černouhelné kaly byly spalovány při nastavení dávkování na hodnotu 5 pro výpočet entalpické bilance.

#### 4.4. Analytické a měřicí metody

V palivu byl standardními analytickými metodami stanoven obsah vody (W), popela (A), hořlaviny (h) a prchavé hořlaviny (V). Stejnými metodami byl stanoven i nedopal. Kalorimetricky bylo stanoveno spalné teplo, z něhož pak byla dopočítána výhřevnost. Elementární stanovení obsahu C, N, H, S, Cl v palivu a nedopalu bylo provedeno v Centrálních laboratořích organické elementární analýzy. Obsah kyslíku byl dopočítán. Při nastavení dávkování na hodnotu 5 byly u paliv č. 2–6 změřeny také hodnoty  $C_xH_y$  Ing. Malechou, CSc., a Ing. Skobljou z Ústavu plynárenství, koksochemie a ochrany ovzduší; byly též naměřeny VOC zachycením do trubičky a PAH zachycením do acetonu. Pro doplnění byly pro běžně dostupné směsné pelety zjištěny emise PAH, PCB a PCDD/F Ing. Neubauerovou z firmy Axis Varilab spol. s r.o.

### 5. Stanovení bilancí

Základní schéma pro stanovení hmotnostních a entalpických bilancí:

Vstupy: palivo (pal)  
suchý vzduch (vzd)  
vlhkost vzduchu ( $H_2O_{vzd}$ )  
studený vzduch

Výstupy: suché spaliny (spal)  
vlhkost spalin ( $H_2O_{spal}$ )  
nedopal (ned)  
teplý vzduch

Pro výpočet bilancí byly použity níže uvedené veličiny

Tabulka I  
Údaje o průběhu spalování (číslo paliva viz kap. 4.1.)

Podmínky spalování	1	2	3	4	5	6
Množství paliva, kg	4,00	5,00	3,50	4,00	1,75	3,00
nedopalu, %	0,99	0,88	0,73	0,50	0,54	18,00
Doba spalování, min	210	240	165	210	100	210
Spotřeba paliva, $kg \cdot h^{-1}$	1,14	1,25	1,27	1,14	1,03	0,86
Teplota vzduchu, °C	23,1	19,0	19,4	19,0	18,0	22,5
ohřátého vzduchu, °C	135,0	151,0	146,5	162,0	158,0	120,5
spalin, °C	182,1	205,7	193,9	221,2	229,3	168,3
Tlak, hPa	0,19	0,13	0,12	0,13	0,09	0,18
Přebytek vzduchu, %	3,6	4,5	6,4	3,3	3,9	6,5
Komínová ztráta, %	19,2	25,2	37,2	21,9	27,3	33,7
Účinnost spalování, %	80,8	74,8	62,8	78,1	72,7	66,3
Relativní vlhkost vzduchu, %	41	42	44	42	44	36

(v následujícím přehledu jsou uvedena i příslušná měřicí zařízení a jejich přesnost):

hmotnost – analytické váhy,  $\pm 0,0002$  g / kupecké váhy pro stanovení hmotnosti paliva,  $\pm 1$  g  
teplota spalin a vzduchu – analyzátor spalin Madur GA-60,  $\pm 1$  °C  
teplota ohřátého vzduchu – digitální teploměr,  $\pm 0,1$  °C  
tlak – analyzátor spalin Madur GA-60,  $\pm 0,01$  hPa  
relativní vlhkost – vlhkoměr,  $\pm 1$  %  
spalné teplo – kalorimetr KL-6,  $\pm 0,001$  °C  
elementární stanovení – uhlík, vodík, dusík CHN analyzátor Perkin-Elmer 2400,  $\pm 0,01$  % / síra titračně pomocí  $Ba(ClO_4)_2$  na indikátor Thorin,  $\pm 0,01$  % / chlor titračně pomocí  $AgNO_3$ ,  $\pm 0,01$  % / kyslík se dopočítává  
spaliny – analyzátor spalin Madur GA-60:  $O_2$  s elektrochemickou celou,  $\pm 0,01$  % /  $CO_2$  přepočítáván,  $\pm 0,01$  % /  $CO$ ,  $NO$ ,  $NO_2$ ,  $SO_2$ , s elektrochemickou celou,  $\pm 1$  ppm (obj.).

### 6. Výsledky a diskuse

#### 6.1. Průběh spalování

Základní hmotnostní, teplotní a časový průběh spalování je zaznamenán v tabulce I.

Z tabulky je patrné, že u pelet z dřevních odpadů je velmi nízké procento nedopalu oproti peletám z černouhelných kalů. Hodinová spotřeba paliva je však u paliv č. 1–5 vyšší než u paliva č. 6, je to dáno vlhkostí paliva, obsahem prchavé hořlaviny a obsahem popela.

Teplota ohřátého vzduchu měřená přímo na výstupu z výměníku je zhruba o 50 °C nižší než teplota spalin. Teplota spalin je však velmi nízká, z čehož vyplývá nedokonalost spalování a vysoké koncentrace produktů nedokonalého spalování ( $CO$  a vyšších uhlovodíků). Vysoký přebytek vzduchu je dán netěsnostmi spalovacího zařízení.

#### 6.2. Vlastnosti paliv

Výsledky analýz paliv a příslušná spalná tepla a výhřevnosti jsou v tabulce II.

Tabulka II

Chemické a fyzikální vlastnosti paliv (číslo paliva viz kap. 4.1.)

Palivo č.	C [%]	H [%]	N [%]	S [%]	O [%]	A [%]	W [%]	V [%]	Q <sub>s</sub> [MJ.kg <sup>-1</sup> ]	Q <sub>i</sub> [MJ.kg <sup>-1</sup> ]
1	49,15	5,42	0,08	0,15	36,30	0,81	8,09	85,25	18,53	17,14
2	47,93	5,34	0,07	0,15	37,62	0,83	8,06	85,32	18,67	17,30
3	49,50	5,45	0,06	0,03	38,74	0,31	5,91	84,99	20,16	18,82
4	46,84	5,85	0,00	0,06	39,12	0,32	7,81	86,21	19,09	17,61
5	44,47	4,36	0,04	0,04	43,04	0,30	7,75	86,33	19,10	17,95
6	47,56	2,04	0,73	0,19	6,80	14,69	27,99	45,11	19,46	18,33

Tabulka III

Naměřené koncentrace plynných emisí na výstupu z krbových kamen (číslo paliva viz kap. 4.1.)

Palivo č.	O <sub>2</sub> [obj.%]	CO <sub>2</sub> [obj.%]	C [ppm]	NO <sub>x</sub> [ppm]	C <sub>x</sub> H <sub>y</sub> [ppm]	CO [mg.m <sup>-3</sup> ]	NO [mg.m <sup>-3</sup> ]	NO <sub>x</sub> [mg.m <sup>-3</sup> ]	VOC [μg.m <sup>-3</sup> ]	PAH [μg.m <sup>-3</sup> ]
1	14,8	5,7	1594,0	65,3	–	1967,4	129,2	193,1	–	–
2	15,4	5,2	1681,0	142,1	352,6	2578,7	186,0	284,1	1428,0	129,0
3	17,6	3,1	2055,4	46,5	224,2	2536,8	62,9	93,8	5398,0	671,0
4	14,3	6,1	1394,2	90,6	301,6	1702,1	123,0	183,7	1143,0	122,0
5	15,3	5,2	2869,1	171,5	246,5	3915,8	234,0	349,4	9528,8	631,0
6	17,5	3,0	3799,4	200,5	659,3	4689,2	266,8	402,1	36147,0	9209,0

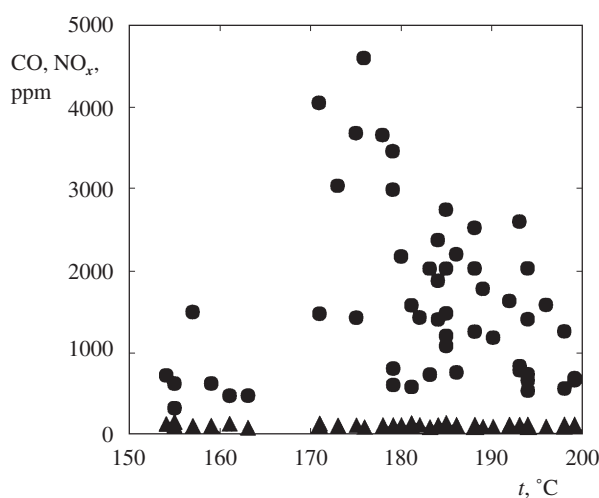
Zjištěné hodnoty uvedené v tabulce II potvrzují, že v palivu je nízký obsah síry, dusíku, vlhkosti a popela; patrný je i vysoký obsah prchavé hořlaviny (V), který je pro dřevo charakteristický. Dále jsou vidět rozdíly ve vlastnostech paliv, např. listnaté pelety mají o něco vyšší obsah popela, síry i dusíku, a tím i nižší hodnoty spalného tepla a výhřevnosti než pelety směsné a americké. Dá se to vysvětlit přítomností kůry obsažené v těchto peletách. Americké pelety jsou svým složením velmi podobné peletám směsným. Pelety z černouhelných kalů vykazují nízký obsah vodíku, kyslíku a prchavé hořlaviny a vysoký obsah vody, popela, dusíku a síry oproti ostatním peletám.

Hodnoty výhřevnosti všech paliv (viz tabulka II) jsou srovnatelné s hodnotami výhřevnosti hnědého uhlí<sup>6</sup>.

### 6.3. Spaliny

Velmi důležitými údaji pro výpočet hmotnostní a entalpicke bilance jsou hodnoty z měření spalin. Všechny hodnoty naměřených koncentrací emisí pro jednotlivá paliva v tabulce III byly přepočítány a vztaheny na relativní obsah kyslíku 11%, suchý plyn a standardní podmínky (0 °C; 101,3 kPa).

Ačkoli spalování probíhalo při velkém přebytku vzduchu, objevily se vysoké koncentrace CO, které jsou projevem nedokonalosti spalování. Bylo to pravděpodobně způsobeno nízkou teplotou spalování, kdy nedošlo k úplné oxidaci uhlíku až na CO<sub>2</sub>. Zároveň s emisemi CO se objevily i vysoké koncentrace organických látek. Po uvolnění prchavé hořlaviny z paliva nestačí organické látky ve spalovacím prostoru dohořet. Experimentální zařízení nemá šamotovou vyzdívkou, která zaručuje dostatečné vyhřátí spalovacího prostoru a udržení vysoké teploty spalování pro dohoření nespálených produktů.

Obr. 2. Závislost emisí CO a NO<sub>x</sub> na teplotě spalin (t); ● CO, ▲ NO<sub>x</sub>

Emise síry nebyly vůbec detegovány, i když palivo obsahovalo několik setin až desetina procenta síry. Dá se to vysvětlit tím, že proběhla reakce s uhlíčanem draselným. Síra se tak dostala do popela, a ne do spalin.

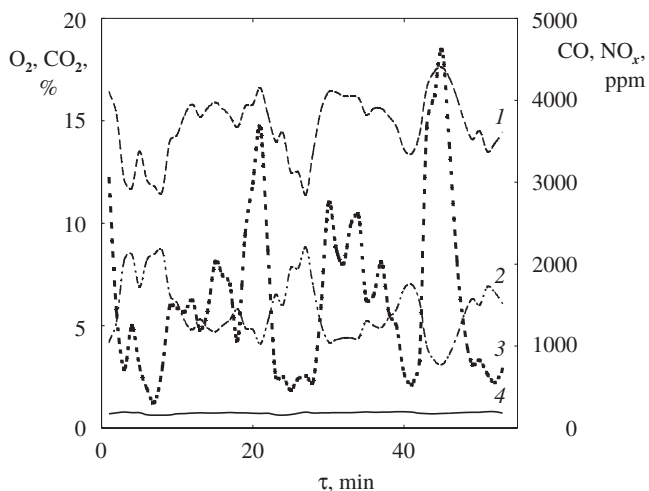
Z tabulky III vyplývá, že u černouhelných kalů byly naměřeny velmi vysoké koncentrace všech polutantů.

Některé závislosti z průběhu měření emisí pro netříděné listnaté pelety jsou zaznamenány v grafech na obrázcích 2–4.

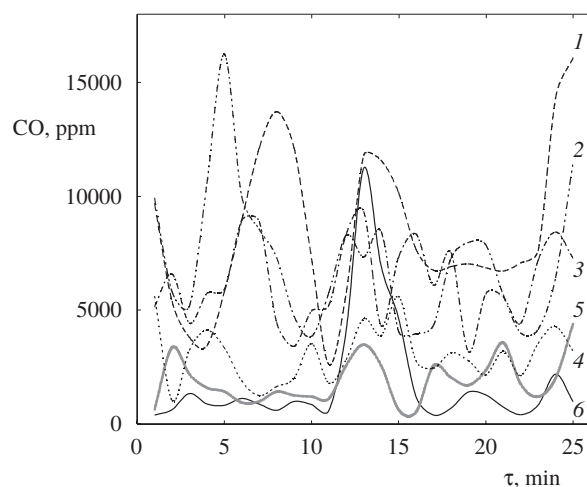
Obr. 2 představuje závislost emisí CO a NO<sub>x</sub> na teplotě spalin. Z této závislosti je patrné, že s rostoucí teplotou spalin

klesá obsah CO a stoupá obsah  $\text{NO}_x$ . Z grafu na obr. 3 je zřejmé, že zároveň při růstu obsahu  $\text{CO}_2$  roste také obsah  $\text{NO}_x$  a dochází k poklesu obsahu  $\text{O}_2$  a CO a naopak. Průběžný

pokles a vzrůst všech těchto hodnot byl způsoben diskontinuálním spalováním způsobeným dávkováním paliva. Graf na obr. 4. naznačuje, proč byla pro bilancování systému zvo-



Obr. 3. Závislost emisí  $\text{O}_2$  (1),  $\text{CO}_2$  (2), CO (3) a  $\text{NO}_x$  (4) na čase  $\tau$



Obr. 4. Časová závislost emisí CO na změně nastavení dávkování paliva (hodnoty dávkování viz kap. 4.3.)

Tabulka IV

Hmotnostní bilance v kg (číslo paliva viz kap. 4.1.)

Palivo č.	1	2	3	4	5	6
Palivo	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Vzduch suchý	19,95	21,14	34,90	18,11	18,65	30,90
Vlhkost vzduchu	0,15	0,12	0,22	0,11	0,11	0,19
<i>Vstupy celkem</i>	<i>21,10</i>	<i>22,26</i>	<i>36,12</i>	<i>19,22</i>	<i>19,76</i>	<i>32,09</i>
Spaliny suché	20,40	21,64	35,43	18,53	19,10	31,35
Vlhkost spalin	0,72	0,68	0,77	0,72	0,58	0,65
Nedopal	0,01	0,01	0,006	0,005	0,005	0,19
<i>Výstupy celkem</i>	<i>21,13</i>	<i>22,33</i>	<i>36,206</i>	<i>19,255</i>	<i>19,685</i>	<i>32,19</i>
<i>Diference, %</i>	<i>0,14</i>	<i>0,31</i>	<i>0,24</i>	<i>0,18</i>	<i>0,35</i>	<i>0,31</i>

Tabulka V

Entalpické bilance v kJ (číslo paliva viz kap. 4.1.)

Palivo č.	1	2	3	4	5	6
Palivo	18542,0	18682,0	20172,0	19100,0	19112,0	19472,0
Spalovací vzduch	463,2	403,7	680,5	345,8	337,4	698,7
Vlhkost vzduchu	382,1	303,6	557,0	278,3	278,0	483,2
<i>Vstupy celkem</i>	<i>19387,3</i>	<i>19389,3</i>	<i>21409,5</i>	<i>19724,1</i>	<i>19727,4</i>	<i>20653,9</i>
Spaliny suché	3764,0	4515,1	4981,7	4147,5	4457,6	5349,4
Spálení CO	304,0	304,0	709,3	202,6	506,6	1114,5
Vlhkost spalin	2049,8	1959,8	2188,3	2103,8	1700,6	1831,1
Nedopal	82,8	25,8	81,7	47,4	60,2	1359,8
Využití tepla vzduchu	12547,9	12047,9	13135,5	12653,8	12375,4	10036,5
Nezjištěné ztráty	638,8	536,7	313,3	569,0	627,0	962,6
<i>Výstupy celkem</i>	<i>19387,3</i>	<i>19389,3</i>	<i>21409,5</i>	<i>19724,1</i>	<i>19727,4</i>	<i>20653,9</i>
<i>Účinnost, %</i>	<i>64,7</i>	<i>62,1</i>	<i>61,4</i>	<i>64,2</i>	<i>62,7</i>	<i>48,6</i>

lena hodnota dávkování paliva 5. Emise CO jsou při tomto dávkování nižší než při ostatních a mají rovnoměrnější průběh.

Pro doplnění byly u vzorků č. 2–6 naměřeny produkty nedokonalého spalování  $C_xH_y$ , VOC, PAH. Je nutno zdůraznit, že při stanovení polycyklických aromatických uhlovdíků bylo zjištěno velké množství organických kyslíkatých sloučenin, což bylo pravděpodobně způsobeno pyrolýzou paliva.

Pro běžně dostupné palivo, kterým jsou směsné pelety, byly navíc změřeny emise PCB, PAH, PCDD/F. Koncentrace PAH byla  $191,4 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$  (objem emisí použitý při stanovení koncentrace byl přepočten na normální podmínky). Nejvíce zastoupeny byly sloučeniny: fenantren, acenaftalen, fluoranthen, fluoren a naftalen. Suma di- až oktachlorbifenylů byla  $326 \text{ ng}\cdot\text{m}^{-3}$ . Tyto sloučeniny jsou označovány jako prekurzory PCDD/F. Dále byly naměřeny emise ne- ortosubstituovaných polychlorovaných bifenylů  $24,1 \text{ ng}\cdot\text{m}^{-3}$  (tj.  $0,037 \text{ ng TEQ}\cdot\text{m}^{-3}$ ). Obsah PCDD/F byl stanoven také v TEQ a činil  $4,5 \text{ ng TEQ}\cdot\text{m}^{-3}$ . Hodnoty PCB a PCDD/F byly ovlivněny obsahem chloru ( $0,11 \text{ hm.}\%$ ), který byl stanoven elementární analýzou. Limitní hodnota pro PCDD/F při spalování komunálních odpadů činí  $0,1 \text{ ng TEQ}$  (tzv. toxický ekvivalent) $\cdot\text{m}^{-3}$ ; v tomto případě je zřejmé, že byla výrazně překročena. Emise chlorovaných sloučenin vznikají právě spalováním dřeva a dřevěných odpadů. K jejich tvorbě dochází za nepříznivých spalovacích podmínek nebo při vyšším obsahu chlorovaných sloučenin.

#### 6.4. Nedopal

V průběhu spalování nebylo spáleno veškeré palivo. Vzniklý nedopal zůstával převážně ve vnitřním prostoru kamen. Součástí nedopalu bylo také velké množství propadu, způsobené rozmělněním pelet na menší fragmenty, které propadly roštem nespálené, nebo celé pelety vypadly mimo rošt. Pro eliminaci tohoto propadu bylo proměřeno palivo tříděné (vzorky č. 2 a 4). Jak je vidět v tabulce I u listnatých pelet, byl nedopal snížen o  $\sim 30\%$  a u směsných pelet o  $\sim 40\%$ . U černouhelných kalů navíc, v důsledku vyšší teploty hoření, docházelo ke tvorbě škváry, která zůstávala na roštu, a tím zabraňovala propadu popela do popelníku. Rošt musel být pravidelně během měření čištěn a aby nedocházelo k velkým diferencím při analýze, bylo nutné nedopal zhomogenizovat.

#### 6.5. Hmotnostní a entalpické bilance

Hmotnostní a entalpické bilance byly počítány standardními postupy. Hodnoty výsledků bilancí jsou zaznamenány v tabulkách IV a V.

V hmotnostní bilanci je rozdíl mezi vstupem a výstupem vyjádřen diferencí v procentech a je způsoben různou přesností vzorkování a různou přesností jednotlivých metod stanovení.

Výsledkem entalpické bilance je účinnost zařízení, která se pohybuje pro paliva z biomasy v rozmezí  $61\text{--}65\%$ . Pro černouhelné kaly byla vypočtena účinnost  $49\%$ . Jak bylo zjištěno, upravené černouhelné kaly, i díky vysokým koncentracím emisí, nejsou vhodné jako palivo pro spalování v tomto zařízení. K tomuto zjištění přispívá i fakt, že palivo, ačkoli má vysoký obsah vlhkosti, vyvíjí vysokou teplotu hoření, při které

dochází ke tvorbě škváry, což je velmi nežádoucí vzhledem k velikosti a tvaru roštu.

Nezjištěné ztráty při výpočtu entalpické bilance jsou pravděpodobně nespálené uhlovdíky při nedokonalém spalování a ztráty tepla sáláním, konvekcí apod.

## 7. Závěr

Experimenty prováděné v této práci byly zaměřeny na hodnocení biomasy jako alternativního paliva pro spalování v lokálním topeništi Peletop 5.1. Hodnocení bylo realizováno pomocí hmotnostní a entalpické bilance. Bylo potvrzeno, že pro dané spalovací zařízení je nutné speciálně upravené palivo ve formě pelet o průměru max.  $1 \text{ cm}$  z dřevěných pilin. Pelety vyrobené na bázi černouhelných kalů se při spalovacích zkouškách neosvědčily z důvodů zanášení spalovacího roštu a vzniku vysokých koncentrací produktů nedokonalého spalování.

Z hlediska emisí bylo potvrzeno, že oxidy síry při spalování zkoumané biomasy nevznikají. Naproti tomu vzniká velké množství produktů nedokonalého spalování (CO a vyšších uhlovdíků) i při velkém přebytku vzduchu. U všech druhů paliv biomasy byly emise srovnatelné, pouze černouhelné kaly produkovaly větší množství všech emisí. Emise chlorovaných sloučenin překročily stanovený limit pro spalovny komunálních odpadů  $0,1 \text{ ng TEQ}\cdot\text{m}^{-3}$ .

U tříděných paliv (biomasy) byla zjištěna menší množství nedopalu.

Výsledek hmotnostní bilance ukázal, že spalování dřevěných pelet je z hlediska vzniku odpadu minimální. Diference při výpočtu hmotnostní bilance byla zanedbatelná. Její hodnota byla ovlivněna různými metodami stanovení.

Entalpická bilance stanovila účinnost křbových kamen na  $61\text{--}65\%$  v případě použití biomasy. Účinnost při použití pelet z černouhelných kalů byla  $49\%$ .

*Autoři děkují panu Ing. J. Jiránkovi z Ministerstva životního prostředí ČR za jeho aktivitu při vedení tohoto projektu.*

## LITERATURA

- Petříková V.: *Biomasa pro energii*. www.vurv.cz/czbioml, 1999.
- Jech L.: *Sborník Biomasa – zdroj obnovitelné energie v krajině, Průhonice, 5.–6. října 2000*.
- Noskivič P.: *Biomasa a její energetické využití*. PHARE, Praha 1995.
- Forsberg G.: *Biomass Bioenergy* 19, 17 (2000).
- Mukadi L., Guy C., Legros R.: *Fuel* 79, 1125 (2000).
- Šešulka V.: *Analýza paliv*. SNTL/ALFA, Praha 1970.
- Splithoff H., Hien K. R. G.: *Fuel Process. Technol.* 54, 189 (1998).
- Rédr M., Příhoda M.: *Základy tepelné techniky*. SNTL, Praha 1991.
- Kára J.: *Pracovní seminář Využití biomasy jako obnovitelného zdroje energie, Praha, 10. května 1995*.
- van der Lans R.P., Pedersen L.T., Jensen A., Glarborg P., Dam-Johansen K.: *Biomass Bioenergy* 19, 199 (2000).
- Ndiema C. K. W., Mpendayoe F. M., Williams A.: *Energ. Conv. Manage.* 39, 1357 (1998).

12. Šimíčková G.: *Diplomová práce*. VŠCHT, Praha 1998.
13. Schmidt H.: *Diplomová práce*. VŠCHT, Praha 1997.
14. Chagger H. K., Kendall A., McDonald A., Pourkashanian M., Williams A.: *Appl. Energy* 60, 101 (1998).
15. Mascolo G., Lotito V., Spinosa L., Mininni G., Bagnuolo G.: *Environ. Eng. Sci.* 16, 287 (1999).
16. Rausa R., Mascolo G., Bassetti A.: *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 52, 115 (1999).
17. Jenkins B. M., Jones A. D., Thurn S. Q., Williams R. B.: *Atmos. Environ.* 30, 3825 (1996).
18. Koziński A., Saade R.: *Fuel* 77, 225 (1998).
19. Jenkins B. M., Baxter L. L., Miles T. R. Jr., Miles T. R.: *Fuel Process. Technol.* 54, 17 (1998).
20. Kazmarová H.: *Sborník konference Měření a hodnocení znečištění ovzduší E'97, Praha, 13. března 1997.*

**E. Machníková<sup>a</sup>, M. Koutský<sup>a</sup>, F. Hrdlička<sup>b</sup>, and J. Vošta<sup>a</sup>** (<sup>a</sup>*Department of Power Engineering, Faculty of Environmental Technology, Institute of Chemical Technology,*

*Prague*<sup>b</sup>*Department of Fluid Dynamics and Power Engineering, Faculty of Mechanical Engineering, Czech Technical University, Prague*): **Combustion Efficiency and Emissions in the Combustion of Biomass in Stoves**

The paper presents mass and enthalpy balances in the combustion of biomass in stoves. The first part of the paper concerns the biomass as an alternative source of energy, the combustion processes, formation of emissions and the method of calculation of mass and enthalpy balances. In the second part, experimental data are presented involving four types of fuels: foliate pellets, mixed pellets, "American" pellets and sludge pellets of the bituminous coal type. The efficiency of the stove was calculated for all the fuels using mass and enthalpy balances. In addition, analysis of products of imperfect combustion, such as  $C_xH_y$ , volatile organic compounds, persistent organic pollutants (polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzodioxines and dibenzofurans) was performed.



## *Univerzita Pardubice Fakulta chemicko-technologická*

pořádá veletrh pracovních příležitostí

### **ChemKontakt 2003**

*dne 16.4.2003 v Aule Univerzity Pardubice*

**Program:**

8:00–10:00 registrace firem  
10:00–15:00 ústní prezentace v aule  
firemní prezentace u stánků

ChemKontakt 2003 je prezentací chemických firem působících v ČR s cílem informovat studenty o profilech firem a možnostech uplatnění absolventů. K dispozici bude katalog s informacemi o zúčastněných firmách.

Registrační poplatek ve výši 4.270,00 Kč (3.500,00 Kč + 22% DPH), prosíme uhradit nejpozději do 14.3.2003 na účet č. 37030-561/0100, variabilní symbol 3900 330001

Bližší informace o veletrhu, přihlášky k účasti a podmínky účasti je možné získat na děkanátu Fakulty chemicko-technologické, [www.upce.cz](http://www.upce.cz), kontaktní osoby: doc. Ing. Ladislav Svoboda, CSc. a Ing. Iva Ulbrichová, CSc., nám. Čs. legií 565, 532 10 Pardubice, [dekanat@upce.cz](mailto:dekanat@upce.cz), tel 466 037 514, -507.

Podklady pro prezentaci v katalogu lze zaslat na uvedenou adresu i elektronickou poštou nejpozději do 14.3.2003.

---

**RECENZE**

---

Anna Koreňová, Michal Uher:  
**Bioorganická chémia v otázkách a odpovediach**  
Slovenská technická univerzita v Bratislave, Bratislava 2002.  
Stran 145, cena 159,- SK, ISBN 80-227-1678-2.

Knihy věnované bioorganické chemii vycházejí velice zřídka. V současné době je u nás dostupná pouze kniha Waisser K., Palát K., Jr.: *Bioorganická chemie*, 2. vydání, Karolinum 2001. Proto lze uvítat publikaci slovenských kolegů, která má jinou strukturu než naše příručka. Protože každý Čech je schopen číst slovensky, kniha zasluhuje pozornost české chemické veřejnosti. Je pojatá zcela jinak než naše příručka. I když název svádí k názoru, že se může jednat o sbírku úloh, dílo je skutečnou učebnicí bioorganické chemie. Je zaměřeno spíše na obecnější otázky, tematika biologické aktivity látek je zanedbaná.

Knihy je rozdělena na 5 dílčích částí (1. Aminokyseliny, peptidy a bílkoviny; 2. Enzymy; 3. Nukleové kyseliny; 4. Polysacharidy; 5. Antibiotika). Na rozdíl od naší příručky je více

orientovaná k pohledům organické chemie, např. pozornost je věnována způsobům získání popisovaných látek, stanovení struktury a pod. Pouze nepatrná část je zaměřena na mechanismy biologické aktivity, a to ve velmi malém a zobecněném rozsahu. Uvedenou výtku lze přisoudit části Antibiotika, kde informace autora o mechanismech účinku je pro stručnost velmi nedokonalá. Každý celek je uzavřen řadou otázek, odpovědi by měl čtenář pochopit z četby předchozí části. Otázky tvoří jen malou část díla. Zvláště dobře hodnotím grafické zpracování díla.

Knihy by mohla být vhodným doplňujícím textem při výuce organické chemie na vysokých školách, zvláště pak v kursech pro doktorandy. Mohla by být vhodným učebním textem i pro středoškolské učitele. Díky Malému centru v Brně (v komplexu Přírodovědecké fakulty, Masarykovy univerzity), které prodává i slovenskou odbornou literaturu, jde o knihu snadno dostupnou. Domnívám se, že kniha nalezne na našich pracovištích hodně zájemců.

Karel Waisser