

**CHEMIE 2002\*****RUDOLF ZAHRADNÍK**

*Ústav fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského, Akademie věd České republiky, Dolejškova 3, 182 23 Praha 8  
e-mail: zahrad@jh-inst.cas.cz*

*Věnováno prof. Dr. Petru Čárskému u příležitosti jeho šedesátin*

Došlo dne 25.IV.2002

**Klíčová slova:** rychlé a ultrarychlé procesy, nanosystémy, van der Waalovy systémy, supramolekulové systémy, molekulové stroje, katalýza a asymetrická katalýza, kombinatoriální chemie, vodíkové a halogenové vazby, sloučeniny obsahující prvky vyšších řad periodického systému, pokusy s individuálními molekulami, teorém CPT, určování konstituce, kvantová chemie, molekulová mechanika.

**Obsah**

1. Úvod
2. Příprava nových molekul a materiálů
  - 2.1. Ultrarychlé procesy
  - 2.2. Rozsáhlé systémy
  - 2.3. Molekulové stroje
  - 2.4. Katalýza
  - 2.5. Asymetrické syntézy
  - 2.6. Kombinatoriální chemie
3. Speciální vazby
4. Expanze do vyšších řad periodického systému
5. Pokusy s jednotlivými molekulami
6. Další aktuální témata: ilustrace
7. Symetrie: Teorém CPT
8. Experimentální metody pro určování konstituce
9. Molekulová kvantová mechanika a příbuzné metody

**1. Úvod**

Ti, kteří prožili podstatnou část druhé poloviny 20. století v kontaktu s chemií, jsou svědky velikého rozmachu této disciplíny ve všech jejích oblastech. O růstu chemie svědčí, mimo jiné, odhady počtu známých species v průběhu posledních sta let: počátkem 20. století to byl milion, v osmdesátých letech okolo deseti milionů a odhad pro letošní rok činí dvacet milionů. Není sporu o tom, že něco podobného lze říci o mnoha oblastech lidské činnosti v mnoha vědách, ať už ve formě čisté či aplikované; o průmyslu ostatně platí totéž. Ve sledovaném údobí vznikly v oblasti chemie stovky nových časopisů. Rozsah mnoha časopisů roste: časopisy menší rozsahem dosahují

tisíců stránek ročně, časopisy větší desetitisíců. Zdá se, že se uplatňují ne vždy příznivě komerční hlediska. Ač dnešní situace nutí badatele k intenzivnímu publikování, růst počtu časopisů v nejedné oblasti byl tak velký, že některé redakce trpí nedostatkem příspěvků, přirozeně především těch dobrých. Jiný okruh potíží je spojen s růstem cen časopisů. Ceny rostou rychleji než částky, jež mají knihovny k dispozici; odříkání předplatného působí další růst ceny časopisů. Je možné, že v příštích 10–15 letech pomohou elektronická média přivést dnešní poněkud chaotickou situaci do stavu vhodného pro pár příštích desetiletí.

Rozvoj aktivit v chemii je stejně dobře patrný v oblasti knižní literatury. Ve více chemických disciplínách, které existovaly už před půl stoletím, nebyla k dispozici žádná monografie; dnes v mnoha z nich jsou k dispozici desítky děl, někdy celá knihovnička či knihovna.

Vybavení laboratoře z roku 1950 a 2000 se liší snad ještě pronikavěji: zkušený chemik–experimentátor r. 1950 by stál v dnešní laboratoři v mnoha souvislostech bezradně. Porovnávat výpočtové možnosti nemá ani smysl. Ti, kdož měli možnost situaci pozorovat zblízka, měli ve smyslu intelektuálním opravdu vzrušující život. Z toho všeho ovšem vyplývají pro všeobecné i odborné školství rozsáhlé úkoly, někdy ne lehce zvládnutelné. Navíc (není to specifické jen pro chemii) celoživotní „doškolení“ se stalo naléhavější potřebou, než tomu bylo dříve.

Snad není třeba současné způsoby organizace v oblasti vědy příliš kritizovat (ač leccos si to zaslouží) a napadat např. některé rysy grantových systémů (ač některé jsou nedobré), které se uchytily v celém světě. To si myslím proto, že věda v tomto systému a uspořádání udělala ohromný krok vpřed. A přece by bylo nesprávné nepřipustit, že se leccos změnilo k horšímu. Jde o věci a jevy, jejichž popis není snadný. Týká se to především do hloubky jdoucí diskuse se zasvěcenými partnery domácími i ze světa. Jde o každodenní přemítavý vztah ke zkoumanému tématu s možností badatelského zkoušení, „pokoušení“ a „hraní“. Badatelská atmosféra pracovišť před pár desetiletími se dosti lišila od atmosféry dnešní. K tomu jen jediná konkrétní poznámka: zatímco před lety dílo dobré laboratoře ovlivňovaly trvale návštěvy jejího vedoucího – často každodenní – u pracovních stolů, dnes tomu tak nebývá. V dnešním, poněkud napjatém klimatu (jež někdy připomíná atletické závody) nebývá čas na přemítání, na diskuse, opravdové diskuse (kde se nejen mluví, ale i poslouchá), na návštěvy šéfa v laboratoři atd. Šéf potřebuje mnoho času na přípravu nových výzkumných projektů a psaní zpráv o projektech probíhajících a končených. V dalším čase se zúčastní konferencí mezi Uppsalou, Palermem, Salt Lake City a Hong-Kongem. Nedopouštějme se však staromilské chyby: Není všechno bývalé hezké a pravé vědecké a naopak v současnosti není vše nesmyslně hektické. A dokonce dosud existují šéfové, kteří se na členy laboratoře obracejí s upřímným badatelským zájmem a stihnou dát kvalitní radu, a to i v případě, když

\* Vybrané části této práce budou předneseny na konferenci „Chemistry and Life“, uspořádané u příležitosti 10. výročí obnovení Fakulty chemické Vysokého učení technického v Brně.

zrovna nežadají o pět nových fólií pro přednášku v Kapském Městě.

Další rys, který je pro badatelství v současné chemii příznačný, je mohutný růst složitosti současných aktuálních témat. Intelektuální náročnost je značná a trvale roste; totéž se týká požadavků na vzdělání, přičemž jejich růst je nejvýraznější v oblasti matematiky a fyziky. Samozřejmě lze říci „syntetizují supramolekulové systémy“ nebo „sekvenování, to je to, co mě zajímá“, a tudíž dejte pokoj s matematikou a fyzikou. Něco ovšem na tom je: v mnoha oborech spjatých s chemií lze pracovat se zanedbatelnými znalostmi z exaktního pólu věd, avšak domnívám se, že takto uvažující badatel se dostává čím dál tím více do pozice badatele ne prvotřídního, badatele, který chystá podklady pro jiného, který má lepší vzdělání.

O tom, jak roste náročnost, pokud jde o témata studovaná v chemii, se lze přesvědčit tak, že otevřeme poslední číslo renomovaného chemického časopisu a čteme poctivě názvy článků. Hra spočívá v tom, že u každého názvu, v duchu kvalitně vysvětlíme virtuálnímu kolegovi, který názvu článku nerozumí, oč jde. Myslím, že i dočista dobrý chemik bude rád, zvládne-li to, řekněme, u poloviny článků. Dovedu si ovšem představit, že někdo řekne „mne zajímají kavitandy vykazující schopnost štěpit peptidickou vazbu u cyklických peptidů“, a tím je dán můj obor zájmu v literatuře. Nebo řekne, v souvislosti třeba s nanoklastry „mne zajímají fyzikální vlastnosti klastrů 30 až 50 molekul benzenu při teplotách blízkých 0 K, a tím je dán můj zájem, a to, že více než 80 % názvů prací nerozumím, mě příliš nemrzí“. Mnozí ovšem cítíme, že tento přístup může udělat velkou škodu kvalitě badatelství obou zmíněných. Není však snadné říci, co dělat. Velmistři sledují literaturu často málo, vycházejíce z toho, že to rozhodující vědí od svých kolegů z oboru díky své účasti na 6 až 8 významných symposiích ročně. Mnozí ze zdatných mladých sledují různými cestami svůj uzounký obor zájmu a o tom ostatním soudí, že nevadí, když tam platí „*hic sunt leones*“.

Sbližování a pronikání oborů mívá za následek, že hledíte-li na obsahy časopisů (a v zorce v nich dnes běžně uváděné) spjatých v nadpisu s anorganickou či organickou chemií, vidíte v zásadě totéž. Víím, že pořád existují situace, kdy toto klasické dělení poslouží, ale často ztrácí smysl. V této souvislosti stojí za zmínku, že před pár lety založené evropské časopisy si vedou velmi dobře a velmi rychle získaly renomé. Tak se podařilo vytvořit jakousi symetrii mezi USA a Evropou. Je možné pozorovat růst zájmu respektovaných zámořských autorů o publikování v těchto časopisech; jejich úloha zřejmě poroste i nadále.

Tak jako se od počátku 20. století rozvíjená infračervená spektroskopie stala přirozenou součástí chemických studií (totéž platí ve 2. polovině 20. století o NMR a ESR), tak i kvantová chemie rozvíjená po desetiletí odborníky se na sklonku 20. století stala standardní složkou velmi mnoha chemických studií. Rozvoj výuky teorie chemické vazby, dostupnost kvalitních počítačových programů a láce počítačů způsobily, že účast kvantových chemiků při teoretickém zkoumání běžných chemických situací není nutná. Tento úspěch teorie je ovšem úspěchem chemie; o konkrétních výhodách a užítku dnes už netřeba hovořit.

Před nedávnem jsem poněkud pobouřil svého vzácného kolegu, když jsem napsal, že svého velkého triumfu dosáhla chemie v 19. století. Myslel jsem to takto: chemici 19. století dokázali v době, kdy v reálnou existenci atomů a molekul věřil

jen málokdo, pomocí odbourávacích reakcí s udivující trpělivostí určit správné strukturální vzorce složitých organických a anorganických systémů – správné z hlediska poznatků 20. století. Nejen to, oni rozvinuli umění syntézy tak, že tyto složité species dokázali připravit. Udivující byly také úspěchy analytické chemie. Totéž platí o uvedení chemického průmyslu do života lidské společnosti. Styk chemie s fyzikou a biologií byl chabý: chemie dosáhla triumfu lidského ducha, jakož i udivující zručnosti, sama o sobě. V tomto smyslu bylo, soudím, moje mínění zcela korektní. Dnešní situace chemie je pronikavě jiná. Bariéry mezi přírodními vědami se trvale vytrácejí, struktury i velice složitých molekul se daří určit s ohromnou účinností a netušenou rychlostí metodami experimentální fyziky (rentgenostrukturní analýza, NMR, ESR, hmotnostní spektrometrie, fyzikální separační metody). Molekuly představují společný jmenovatel ohromné oblasti, jež zahrnuje část fyziky, celou chemii, významnou část biodisciplín, velmi perspektivní partie lékařství: vznikly *molekulové vědy*. O fyzikálních vlastnostech lze – díky kvantové mechanice – získat informace výpočetní cestou. Pomocí prostředků matematiky, fyziky a chemie vyrazily biodisciplíny na tažení, jež směřuje k odkrytí mechanismů fungování živé hmoty. U toho všeho je chemie přítomna a hraje vynikající roli. Nemůže být vytlačena ani nahrazena jinou disciplínou, protože jsou to, alespoň zatím, pouze chemici, kteří ovládají umění syntézy. A právě nyní je její rozmach v oblasti obřích systémů udivující.

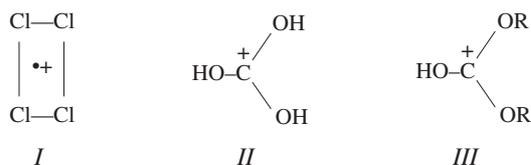
Závěrem této části se sluší říci slovo o komunikování v chemii. Jde o slovní a písemné sdělování dosažených výsledků. To, co bylo před lety řečeno<sup>1</sup> o svízělech v této oblasti, platí i nadále. Potíže spíše rostou: publikuje se víc a víc a mnozí čtou méně a méně. Ani v oblasti odborných setkání, od minisymposií až po obří kongresy, se neudálo nic, co by usnadnilo život badatelů. Počet setkání už léta roste a vynikajících řečníků nepřibývá. Až na úroveň pohromy se někdy daří dotáhnout využití nových audiovizuálních technik: ve hře je plno světél, barev, tvarů, pláten, obrazců a proměn; jen věda někdy jakoby ustupovala do pozadí. Dosud (snad) nebylo využito pouze toho, co se neblaze uplatňuje v rozhlasovém vysílání, totiž podmalování mluveného slova hudbou. Aby mi bylo dobře rozuměno: moje kritika směřuje primárně k ne dosti dobře připraveným přednášejícím, a nikoli k moderním způsobům prezentace.

## 2. Příprava nových molekul a materiálů

Každým rokem přibývá sloučenin, o jejichž strukturách mnozí soudí, že jsou udivující. Přísně vzato, ten údiv je často namístě jen z hlediska struktur, jež nabízely učebnice zhruba do padesátých let; někdy je též vyvolán přežívajícími konzervativními strukturálními teoriemi. Překonání bariér, jež ohrazovaly oblast strukturálních typů klasické chemie, bylo umožněno velkým rozšířením reakčních podmínek: rozšíření oboru teplot (snadná dostupnost teplot blízkých 0 K) a tlaků, zavedení rozpouštědel jedinečných vlastností (např. dipolární aprotická rozpouštědla), časté využívání reaktivity molekul v elektronicky vzbuzených stavech a reaktivity radikálových iontů. Budiž řečeno, že porozumění reakčnímu mechanismu má pro syntézu velký význam. Tomu význačně napomohl rozmach rychlých a ultrarychlých spektroskopí. V poslední

době začínají hrát úlohu i možnosti manipulace s jednotlivými molekulami.

Pro ilustraci a pro potěšení zmíním jen několik případů. Modře je zbarvena sůl  $\text{Cl}_4^+ \text{IrF}_6^-$ , jejíž kation<sup>2</sup> má cyklickou strukturu (I). Podařilo se připravit<sup>3</sup> soli protonizované kyseliny uhličitě (II) a jejího esteru (III); jako anion posloužil hexafluoroantimoničnan. Pomocí neutralizační hmotnostní spektrometrie se zdařilo připravit<sup>4</sup> třetí alotrop kyslíku, a to  $\text{O}_4$ . Slučovací energie této molekuly je dokladem toho, že nejde o už známý van der Waalsův dimer molekul kyslíku,  $(\text{O}_2)_2$ . Tyto nové částice mohou hrát úlohu ve fyzice atmosféry. Kupodivu struktura nových species  $\text{O}_4$  zůstává neznámá – jaká příležitost pro kvantové chemiky!



## 2.1. Ultrarychlé procesy

Od padesátých let 20. století prošla chemická fyzika rychlých procesů od milisekundové oblasti do světa dějů sledovatelných femtosekundovou spektroskopií (1 fs =  $10^{-15}$  s) a femtochemie se stala běžně používaným pojmem. Tento vývoj vyvrcholil udělením Nobelovy ceny za chemii A. H. Zewailovi v r. 1999. Femtochemie dovoluje zobrazit vskutku elementární děje chemických reakcí, vznik a zánik kovalentní vazby. Tyto děje se odehrávají v časové oblasti mezi femtosekundami a pikosekundami: pro ozřejmění doporučuje Chergui<sup>5</sup> uvědomit si, že vibrační perioda u typické lehké a těžké dvouatomové molekuly ( $\text{H}_2$  a  $\text{I}_2$ ) činí 7,6 a 160 fs. Sluší se zdůraznit, že i v případě pikosekundové spektroskopie se studuje kinetika přeměn, a ne skutečná dynamika<sup>5</sup>. Teprve femtosekundová technika dovoluje sledovat molekulový pohyb v reálném čase. Časové rozlišení je totiž mnohem kratší než vibrační a rotační pohyby. Cílem je znát prostorové a časové souřadnice všech atomů v molekulách při přechodu reaktantů na produkty: můžeme se těšit, že uvidíme, jak se skutečně např. sbaluje molekula bílkoviny.

To převratné spočívá v tom, že nyní lze studovat mechanismy elementárních chemických dějů, a mnozí doufají, že toto úsilí vyústí v naši schopnost lépe než dosud ovládat průběh chemických a biologických reakcí<sup>6</sup>; k tomu může sloužit obratná volba laserových pulsů správné povahy.

Dvěma otázkám nelze odolat: za prvé se lze ptát, jak ovlivňují relace neurčitosti<sup>7</sup> rozlišovací schopnost femtosekundové spektroskopie, a za druhé, jsme na cestě k attochemii? (1 as =  $10^{-18}$  s). V literatuře byly vysloveny domněnky o omezené způsobilosti femtosekundové spektroskopie s ohledem na známé vztahy,  $\Delta t \Delta E \geq h/2\pi$  a  $\Delta x \Delta p \geq h/2\pi$ . Zewail analyzoval tyto vztahy a došel k závěru, že fyzikální smysl výsledků měření není ohrožen<sup>7</sup>. Přesto mám pocit, že diskuse dosud k úplnému závěru nedorazila. Pokud jde o attosekundovou spektroskopii, zdá se, že naděje na realizaci jsou reálné; existuje úmysl studovat pohyb elektronu a přispět k samé podstatě kovalence.

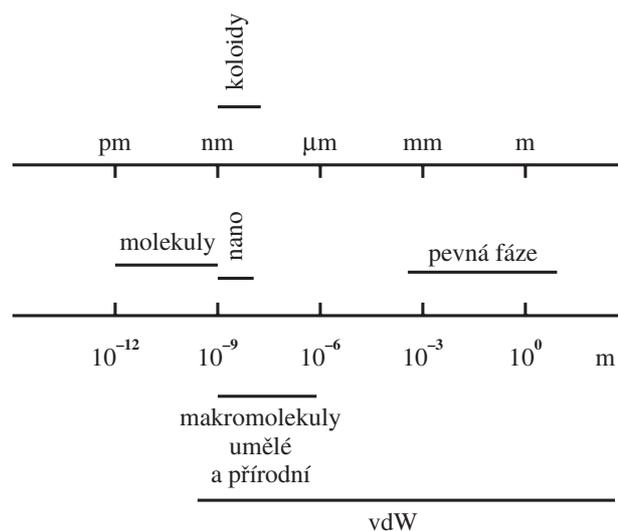
Této tematice věnuje značnou teoretickou pozornost M. Quack<sup>8</sup> se spolupracovníky. Jde jim o studium toho, co ozna-

čují jako primární procesy a studují je u intramolekulových dějů pomocí IČ spektroskopie s vysokým frekvenčním rozlišením a interpretují je pomocí časově závislé Schrödingerovy rovnice: zkoumali např. dynamiku tunelování v dimeru fluorovodíku či stereomutaci chirálních látek tunelováním; jejich zájmy jsou už delší dobu spjaty s teorémem CPT (viz též stať 7.). Závěrem tohoto oddílu se svěřím s údivem, že se v oblasti femtochemie (vedle Quackovy laboratoře) nevyužívá daleko větší měrou řešení časově závislé Schrödingerovy rovnice.

## 2.2. Rozsáhlé systémy

Do této kategorie patří přirozené a umělé polymery a polykondenzáty, iontové a kovalentní krystaly, amorfní látky různých typů a koloidní částice. V posledních letech chemie, fyzika a biologie obřích systémů nabyly velkého rozmachu: hovoří se o van der Waalsově chemii, o chemii klastrů, supra-molekulové chemii a o nanochemii. Je možné, že poslední z uvedených pojmů by bylo často možné nahradit označením koloidní chemie.

Současný veliký rozmach chemie a fyziky obřích systémů je spíše na začátku než na konci. Svět těchto částic je na jedné straně ohraničen světem molekul (rozměry často mezi 0,2–2 nm) a na straně druhé pevnou fází (od několika  $\mu\text{m}$  do libovolného rozměru). Z obrázku 1 je zřejmé, že pokud jde o disperzi hmoty, představují molekuly a pevná fáze krajní případy; ostatní zmíněné útvary tvoří přechod mezi těmito případy. Jedním z důvodů velkého zájmu o tuto oblast přechodu od molekul k pevné fázi jsou specifické vlastnosti částic této oblasti, vlastnosti odlišné od vlastností molekul a od vlastností pevné fáze. To se ovšem vědělo už dlouho o koloidních částicích, avšak teprve v posledních letech si chemici a fyzici uvědomili, jak veliký význam mohou mít tyto částice (nanočástice) např. v různých oblastech elektronického průmyslu či v katalýze; odtud intenzivní pozornost věnovaná této oblasti.



Obr. 1. Rozměry molekul a pevné fáze a rozměry částic v oblasti mezi těmito případy: nanočástice, koloidní částice (1 až 500 nm), makromolekuly umělé a přírodní a van der Waalsovy (vdW) částice

Pokud jde o chemii současnosti a blízké budoucnosti, lze se domnívat, že obě zmíněné *klasické* oblasti obřích molekul (částic) prožijí renesanci. Dynamika koloidních soustav spolu s hydrodynamikou bude hrát významnou úlohu při popisu modelů reprezentujících části živé hmoty. O vývojových tendencích makromolekulové chemie a o jejím průniku s materiálovou vědou<sup>9</sup> je podrobnější řeč ve statí 6.

Obří systémy jsou přístupné dvěma cestami. Buď jde o klasickou syntézu, nebo se využívá ochotného vzniku van der Waalových vazeb mezi vhodnými monomery; často jde o vodíkové vazby. Prvá cesta je velice pracná, druhá už vedla v mnoha případech k přípravě obřích systémů pozoruhodné struktury. Vedle již zmíněné vhodné volby výchozí molekuly (jež je „surovinou“ pro přípravu obřího systému), je zpravidla ještě třeba správné volby primární iniciace. Proces, který po této iniciaci následuje, tedy vlastní tvorba obřího systému, probíhá spontánně; mluví se o „efektu domino“ či „efektu zipu“. Domnívám se, že se v přírodě uplatňují obdobné mechanismy při vytváření rozsáhlých supramolekulových útvarů.

Pokusně lze do světa nanočástic dospět nejen zmíněnou syntézou a spontánní samoorganizací (jde o tzv. „bottom-up“ proces), ale též miniaturizací („top-down“, fotolitografie)<sup>10</sup>.

Ze záplavy článků o této tematice ocituji několik, z nichž lze vycítit širší oblasti. Jde např. o samoorganizaci mřížek s motivem zahrnujícím čtyři atomy (ionty) kovu<sup>11</sup>, o samoorganizaci cyklopeptidu do nanoroury<sup>12</sup>, o tvorbu oligosupramolekul až supramolekulových polymerů pomocí vodíkových vazeb<sup>13,14</sup> a o případ supramolekulové chemie na bázi cyklo-dextrinu<sup>15</sup>. V poslední citované práci<sup>15</sup> autor doporučuje používat označení supramolekulová chemie pro případy, kdy se mezi interagujícími jednotkami netvoří kovalentní vazby. To se mi nezdá šťastné, nevidím totiž důvody, proč oligomery, v nichž jsou subsystémy vázány vazbou libovolného typu, nezařazovat do supramolekulové chemie. Pro případy, u nichž se kovalentní vazba netvoří, se mi zdá označení van der Waalova (vdW) chemie příhodnější. V přehledném článku o nanoelektromechanických systémech<sup>16</sup> se uvádí, že litografickým postupem lze vytvářet objekty o rozměrech do 20 nm. Ukončeme tento odstavec zmínkou o nevsední práci ze světa klastrů aniontů anthracenu s kationty draslíku solvatovanými molekulami tetrahydrofuranu<sup>17</sup>. Teoretická předpověď tripletového základního stavu tohoto klastru byla později potvrzena pokusně teplotně závislou pulzní elektronovou spinovou rezonancí.

Mívám pocit, že užitečnost celé této oblasti v myslích chemiků poněkud předbývá realitu. Přesto se domnívám, že velká očekávání o mnohostranné užitečnosti chemie a fyziky nanočástic budou naplněna. Pro povzbuzení uvádím případ velice aktivního a selektivního hydrogenačního katalyzátoru sestávajícího z nanočástic Ru<sub>5</sub>Pt či Ru<sub>10</sub>Pt<sub>2</sub> umístěných na vnitřních stěnách mezoporézního křemene<sup>18</sup>. Nanoklastrů (a především katalýzy) se týkají i přehledné články věnované jejich přípravě, charakterizaci a aplikaci<sup>19,20</sup>.

Vraťme se ještě ke koloidním soustavám a připomeňme, že je-li mezičásticová vzdálenost malá vůči rozměrům částice, vystupuje ve výrazu pro disperzní interakci úměrnost  $r^{-2}$ , a ne  $r^{-6}$  známá z Londonova výrazu. Pro porozumění fázovému chování koloidních suspenzí je třeba studovat silové působení mezi částicemi, k čemuž, podobně jako u velkých molekulových systémů, slouží efektivní párové potenciály. Fázové

chování koloidních soustav bylo také modelováno na počítači za využití teorie DFT (density functional theory)<sup>21</sup>.

### 2.3. Molekulové stroje

Poprvé jsem o vodivých molekulových drátech z plastických hmot, jako součástech elektrických zařízení, slyšel od O. Wichterleho v padesátých letech. On byl také ten, kdo nás povzbudil ke kvantověchemickému studiu<sup>22</sup> nekonečných konjugovaných systémů; z praktického hlediska nám šlo především o polovodiče s regulovatelnými vlastnostmi. Práce nevyvolala žádný ohlas a zdejší kolegové poukazovali na to, že není šance takové molekulové dráty napojit na elektrické zařízení.

Nejen touha po důsledné miniaturizaci počítačů, ale i prosté přání vyvinout molekulové stroje, vedla v posledním desetiletí k velikému rozmachu v této oblasti. Je s tím spjata rozsáhlá literatura často postižená neduhem současnosti, totiž ne dosti solidním citováním.

O molekulových strojích pracuje Michlova skupina od osmdesátých let. Stejně jako v dalších skupinách i oni věnují pozornost pokusům o konstrukci prvků známých z elektroniky<sup>23</sup>. Rotor o molekulových dimenzích, poháněný proudem atomů vzácného plynu ze supersonické trysky, dosud čeká na realizaci. Simulace založené na molekulové dynamice však nasvědčují možnosti realizace. Lopatky modelového kola reprezentující oktaedrické komplexy rhenia se dvěma ligandy *o*-fenantrolinového typu – jeden je kladně a druhý záporně nabitý<sup>24</sup>. Studie pokračovala zkoumáním chování dipolárního rotoru v rotujícím elektrickém poli<sup>25</sup>. O nedávných pokusných aktivitách v této oblasti se lze dočíst ve studii Stoddarta a spol.<sup>26</sup> a v dalších recentních pracích<sup>27,28</sup>. Lze soudit, že v budoucnosti se dobře uplatní molekulové motory založené na principech známých z biologie.

Do této části lze jako konstrukční prvky zařadit i práce o uhlíkatých nanorourách (či spíše nanohadičkách). Jde o systémy poutající pozornost už delší dobu<sup>29</sup>. Za pozoruhodné dílo materiálové vědy lze pokládat soustřednou uhlíkovou trubičku vně obalenou další trubičkou ze sulfidu wolframičitého. Autoři právem mluví o nanodrátu s izolací<sup>30</sup>. Jiná pozoruhodná práce v této oblasti se týká uhlíkových nanotrubiček s navěšenými funkčními skupinami<sup>31</sup>.

Pokud jde o polovodivé „dráty“, jest věnovat pozornost práci o polymerních materiálech čtvrté generace (*Nobelovská přednáška*<sup>32</sup>). Svazek 99 známé série „Structure and Bonding“ se týká molekulových strojů a motorů<sup>33</sup>. Testování součástek pro molekulovou elektroniku je zasvěcen přehled<sup>34</sup>.

Zdá se, že jeden z citlivých bodů této oblasti se v několika laboratořích blíží vyřešení: mám na mysli připojení „drátu“ k ostatním konstrukčním prvkům či k makroskopickým součástkám (viz stať 5.).

Závěrem se sluší říci, že celá tato oblast je prolutá sny a přáními. Samozřejmě to nejen není nic špatného, dokonce sny zpravidla předcházejí významné objevy. Určitá hypertrofie snění a přání je, domnívám se, vyprovokována mimo jiné grantovou soutěží. Netajím se tím, že věřím, že snů bude ubývat a realizovaných přání přibývat. Extrapolace v této oblasti je ještě riskantnější než v oblastech jiných, ale nemožno nezmínit, že velikost konstrukčních prvků počítačů je už po desetiletí zhruba lineární funkcí času: supersuperpočítače s molekulovými konstrukčními prvky by mohly spatřit světlo světa za 20 let.

## 2.4. Katalýza

Toto je oblast chemie, o níž soudím, že přes všechny rozmach a pozornost jí věnovanou, si mnozí pořád neuvědomují její význam v celém rozsahu. Katalýza příštích let patrně významně změní situaci v průmyslu ve dvou směrech. Půjde o nové, šetrnější výrobní postupy, což bude nadmíru důležité s ohledem na očekávaný rozmach průmyslu v mnoha dosud méně rozvinutých částech světa. Nejen to. Udržení přijatelných podmínek na Zemi vyžaduje usilovat o mocný rozmach využívání katalýzy pro velmi důkladné čištění plynů, vod a všech odpadů opouštějících průmyslové podniky. A třetí oblast, kde právem lze čekat od katalýzy mnoho, je oblast syntézy a přeměn za fyziologických podmínek. To přispěje nepochybně porozumění procesům v živé hmotě. Navíc lze očekávat pozitivní důsledky průmyslové, a to nejen v oblasti biotechnologií.

Myslím, že doba je více než zralá na to, aby se alespoň v některých laboratorních upustilo od překonaného rozdělení katalýzy na homogenní, heterogenní a enzymatickou. Silnější kontakty mezi těmito oblastmi, spolu s obecným uvažováním o tom, jak učinit orbitálně, spinově, či entropicky zakázané procesy dovolenými<sup>35</sup>, přispějí rozvoji katalýzy.

Mám pocit, že na rozdíl od jiných oblastí chemie, jakoby v oblasti katalýzy vše divergovalo. Dílem to snad souvisí s enormním počtem publikací v oboru; dokonce i prací spjatých s kvantovou chemií vychází ročně téměř nepřehledné množství. Takto zaměřené práce v jiných částech chemie přispívají k řádu a určité konvergenci příslušné oblasti. Zdá se mi, že v katalýze tomu tak zatím není. Záplava poznatků roste, zobecnění je velmi málo. Po pár poznámkách o průmyslových aspektech katalýzy upozorním na pozoruhodné rysy enzymatické katalýzy.

Na počátku 21. století se s ohledem na poměrně rychlé vyčerpávání zásob ropy obrací pozornost k zemnímu plynu, jehož zásoby jsou větší. Jeho hlavní složka, methan, je a hojně bude katalyticky přeměňován na chemikálie klíčové důležitosti, jakož i na pohonné hmoty. Jde o procesy, jako je přímá přeměna methanu na methanol a formaldehyd, oxidativní spojení na ethylen, přímá přeměna na aromáty a vodík za nepřítomnosti kyslíku a reformování parou či CO<sub>2</sub> (spojené s vítáním snížením koncentrace skleníkového plynu) s navazující Fischerovou-Tropschovou syntézou.

Hodně pozornosti poutá přímá přeměna relativně levných alkanů C<sub>2</sub> až C<sub>4</sub> na cenné produkty (jsou uvedeny v závorce): ethan (ethylen, kyselina octová), propan (propylen, kyselina akrylová), isobutan (kyselina metakrylová). Tyto procesy jsou navíc v souladu se snahou vyloučit krakování jako cestu k získávání olefinů proto, že moderní, výkonné krakovací zařízení je velice nákladné.

Za jedinečný příspěvek pro porozumění elementárním reakčním krokům průmyslově významných procesů lze pokládat studie v laboratoři H. Schwarze, týkající se ion-molekulových procesů, jichž se účastní atomy (ionty) přechodných kovů<sup>36</sup>. Procesy probíhají ve zdroji hmotnostního spektrometru.

V oblasti homogenní katalýzy v organické chemii, pomocí komplexů kovů, roste touha volit ligandy racionálně, tedy na základě znalostí mechanismu. Vedle studia metateze se věnuje s úspěchem velká pozornost aktivaci vazeb<sup>37</sup> C–H a vazeb<sup>38</sup> C–C. Katalýza cykloadice přechodnými kovy patří už několik let k oblastem uspokojivě prozkoumaným.

Ještě jednou konstatuji, že objem literatury o katalýze je enormní, a proto zvolené monografie z oblasti heterogenní<sup>39</sup> a homogenní<sup>40</sup> katalýzy reflektují osobní zájem autora.

Enzymová katalýza byla původně spjata s biochemickými přeměnami probíhajícími za podmínek *in vivo* a *in vitro*. Význam této katalýzy je širší už léta, avšak v poslední době je průnik do laboratorní a průmyslové chemie pozoruhodný. Domnívám se, že to předznamenává novou éru.

Katalýza enzymy bývá svým způsobem katalýza kovem deponovaným v molekule bílkoviny. Není však pochyby o tom, že i bílkovina sama je schopna v rozmanitých souvislostech vykazovat efekt katalyzátoru. A navíc by bylo zcela falešné upírat podobné možnosti dalším biomakromolekulám, jakož i supramolekulovým strukturám od nich odvozeným. Substrát, tedy molekula, na níž má být vykonán zásah katalyzátoru, je vázán na uvedené makromolekuly či jejich klustry nekovalentní vazbou (vazba vdW). Substrát patrně je v kavitě makromolekuly klubkovitého tvaru či na povrchu supramolekulové struktury vystaven silnému lokálnímu elektrickému poli, které má výrazný vliv na fyzikální vlastnosti i chemickou reaktivitu.

Převratného pokroku bylo dosaženo v práci s krystalickými bílkovinami a s jejich stabilizací zavedením příčných vazeb. Dnes slouží krystalické bílkoviny jako průmyslové katalyzátory a jako nosiče v enantioselektivní chromatografii. Je dobře si uvědomit, že dosud byla určena struktura okolo 13 000 bílkovin a příbuzných molekul. Příprava vzorků pro RTG analýzu, ač namáhavá, se stala rutinní záležitostí. Tyto materiály nejsou tak citlivé a křehké, jak se často myslívá; stabilizované materiály mohou sloužit jako bioorganické zeolity<sup>41</sup>. Dalšího zvýšení stability lze, alespoň v některých případech, dosáhnout uložením enzymu do hydrogelové matrice<sup>42</sup>. Z tohoto hlediska lze snadno nahlédnout velmi vážně míněné snahy dopracovat se k umělým enzymům<sup>43</sup>.

Dalším pozoruhodným rysem současného vývoje je, vedle zvyšování stability enzymů, zvyšování selektivity a katalytické účinnosti enzymů pomocí toho, čemu se říká „usměrněná evoluce“ či evoluční inženýrství<sup>44</sup>.

S ohledem na zmínku o důležitosti přímé oxidace methanu na methanol, podle celkové reakce



si zaslouží pozornost práce využívající ke katalýze methanovou monooxygenasu<sup>45</sup>; jde o případ rozsáhlé mezioborové studie.

Expanze směrem k velkým systémům je patrná nejen v pokusné oblasti. Svědčí o ní i rostoucí počet teoretických studií, týkajících se enzymové katalýzy. Pro porozumění mechanismu enzymaticky katalyzovaných reakcí jsou k dispozici nejen kvantověchemické výpočty energie, ale i údaje o Gibbově energii<sup>46</sup>.

## 2.5. Asymetrické syntézy

Od samého objevu optické aktivity molekul bylo známo, že optické antipody mají různé fyzikální vlastnosti, a tudíž i různou reaktivitu. Sluší se však poznamenat, že donedávna patřilo mezi skalní dogmata chemie přesvědčení o tom, že oba antipody mají identickou energii: nyní máme jistotu, že jejich energie je díky diskriminačnímu efektu slabých interakcí sice

málo, ale vždy rozdílná, viz stať 7. Při přípravě opticky aktivních látek z inaktivních molekul vzniká vždy racemát. Zavadíme-li druhé chirální centrum do opticky aktivní látky, je vždy, často výrazným způsobem, jedna z chirálních forem preferována. Použijeme-li pro přípravu chirální látky z inaktivních molekul opticky aktivního katalyzátoru, vždy jedna z chirálních forem převažuje; v případě, že katalyzátorem je enzym, je výtěžek jedné formy téměř stoprocentní.

Neštěstí spjaté s léčivem Contergan zvýšilo enormně nálehavost a poptávku po chirálně čistých látkách především v oblasti farmaceutické a agrochemické.

Pokud jde o přípravu čistých antipodů, je zřejmé, že cesta založená na katalýze, asymetrická katalýza, je neefektivnější<sup>47,48</sup>. Jako katalyzátory slouží komplexy kovu či iontu kovu s chirálními organickými sloučeninami. Tato oblast se intenzivně rozvíjí sice už několik desetiletí, její aktuálnost však neklesá. V roce 2001 byla třem pionýrům asymetrické katalýzy udělena Nobelova cena za chemii.

Je to nejen mocný rozvoj trhu chirálně čistých léčiv, ale též klíčová úloha optické aktivity v molekulové biologii a v rozpoznávacích procesech, které činí tuto oblast trvale aktuální. V poslední době přibývá opticky aktivních organických sloučenin, jež neobsahují kov, avšak vykazují dobrý katalytický efekt při asymetrické syntéze. V této souvislosti se uplatňují i různé kavítandy.

## 2.6. Kombinatoriální chemie

Chemik vytváří nejprve v mysli a potom v laboratoři připravuje nové strukturní typy, či nové deriváty látek známých, pro potěšení, pro ověření své fantazie, či nejčastěji z důvodů zvaných praktické. Pátrá po nových materiálech, katalyzátorech, lécích, barvivech atd. Zkušený chemik má rozsáhlé znalosti o souvislostech mezi strukturou a vlastnostmi; někdy navíc pomocí intuice či štěstí obohatí soubor připravovaných látek o takovou, jež má požadované vlastnosti v náležité míře. Připravené látky jsou podrobeny screeningu. To vše je ovšem časově i finančně velmi náročné.

Zcela nový přístup k této velice časté úloze ohlásila budapešská skupina A. Furky na 14. mezinárodním biochemickém kongresu v Praze v roce 1988: kombinatoriální chemie byla na světě. Jde o proceduru, která dovoluje připravit veliké množství nových, strukturně příbuzných látek způsobem dalekosáhle automatizovaným a spráženým s robotem, jenž dovoluje provádět screening. Využívalo se při tom podobného postupu, jaký Merrifield zavedl pro syntézu peptidů v pevné fázi; dnes se však hojně využívá i fáze kapalné. Pro ty, kdož jsou zvyklí pracovat výlučně postupy klasické organické syntézy a usilují o přípravu definovaného chemického individua, jsou metody kombinatoriální chemie zprvu podivné, ne-li podezřelé. Reakce se totiž provádějí v pevné fázi v reakčních „mikronádobkách“ na podložce z polystyrenu. Molekuly, které potřebujeme k reakcím, vytvářejí „knihovny“ (srov. mínění R. Hoffmanna<sup>49</sup>). Produktivita přípravy nových species a jejich testování je enormní a navíc trvale roste počet oblastí, v nichž se tyto postupy uplatňují. Jde např. o kombinatoriální výzkum materiálů, katalyzátorů a separačních médií pro enantioselektivní HPLC. Někteří soudí, že kombinatoriální chemie

by v příštích desetiletích mohla dospět k mnoha desítkám milionů nových species, jež budou podrobeny screeningu z různých hledisek. Vedle dobře čitelného referátu Lowa<sup>50</sup> byla této tematice věnována celá čísla předních časopisů publikujících přehledné referáty<sup>51,52</sup>.

Prací v této oblasti přibývá, mám však pocit, že počáteční euforie mnohých oslabila a přehnaná očekávání se už objevují jen zřídka. Stejně důležité je, že mnozí z počátečních skeptiků nahlédli, že jde o postup, který v některých oblastech bude hrát vynikající úlohu. Zdá se, že se v nedaleké budoucnosti dočkáme prvých léků objevených kombinatoriální cestou. Je možné, že právě oblast farmaceutické chemie by mohla profitovat z nedávného rozšíření původního postupu zavedením dynamické kombinatoriální chemie<sup>53</sup>. Původní verze kombinatoriální chemie je založena na knihovnách prefabrikovaných molekul. Dynamická verze využívá reverzibilního spojení souborů základních složek, a tak se vytváří to, čemu Lehn říká virtuální kombinatoriální knihovny.

Domnívám se, že kombinatoriální chemii netřeba omezovat na pokusný přístup. Soudím, že výpočtová kombinatoriální chemie přímo volá po zavedení. Ostatně pátrání po kinetice a termodynamicky stabilních tetracyklických konjugovaných uhlovodících (obsahujících 5-, 6- a 7-členné cykly) bylo výpočtové kombinatoriální chemii blízké<sup>54</sup>. Zbývá dodat, že všechny tetracykly, které v předpovědi obsadily čelná místa, byly v průběhu několika let syntetizovány.

## 3. Speciální vazby

V této části se chci zmínit především o vazbě nevšední důležitosti, o vodíkové vazbě; patří sem též halogenová vazba a vazby v elektronově deficitních molekulách.

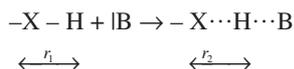
Zanedlouho, v roce 2006, bude namíste připomenout sté výročí objevení vodíkové vazby; neunikla tehdy bystrým pozorovatelům, kteří se zabývali *o*-hydroxyazosloučeninami. Autoři samozřejmě o pozorovaném jevu – o vodíkové vazbě – hovořili způsobem, který odpovídal počátku 20. století.

Role, kterou hrají vodíkové vazby při molekulovém rozpoznávání<sup>55,56</sup>, jakož i při spontánně probíhající samoorganizaci<sup>57,58</sup>, nejen u biochemických soustav, je významným důvodem pro zařazení poznámky o vodíkové vazbě do tohoto článku. Mezi skutečnostmi, které budí údiv, je vyhledání správných partnerů ve složitých reakčních soustavách, jaké představuje nepochybně např. živá hmota. Jedinečnou úlohu přitom hrají nekovalentní interakce\*: tyto jsou zodpovědné za vznik enormního počtu mezimolekulových komplexů; tyto komplexy však opět zhruba stejnou rychlostí zanikají. Ne však všechny; ty „pravé“ mají dobrou vyhlídku na zachování, ať jde o dvoušroubovici nukleových kyselin, jejich komplexy s bílkovinami, komplexy enzym–substrát a četné další. Mechanismy vedoucí ke vzniku „správných“ produktů nejsou zdaleka objasněny; jeden z možných může být zmíněn i zde. Formálně může jít o jakousi paralelu s fungováním zdrhovadla (zipu) toho typu, u něhož lze od sebe oddělit obě poloviny. Jejich spojení, tedy vytvoření „správné“ struktury, musí být zahájeno řádným vložením koncové části jedné poloviny do odpovídající části na druhé polovině a potom je maličkovitě vytvořit

\* Tyto interakce se nazývají též van der Waalsovy (vdW) či slabé; označení „slabé“ v této chemické souvislosti nesmí být zaměněno se slabou interakcí, definovanou ve fyzice jako jeden ze čtyř druhů silového působení.

z obou polovin jeden správný celek. Ve světě biomolekul, či v případě přípravy (syntézy) supramolekuly, jejíž komponenty jsou drženy pohromadě velkým množstvím relativně slabých vodíkových vazeb, je proces spojení složek zahájen správným iniciačním krokem, např. vhodně orientovaných složek supramolekuly k iontu kovu: poté se uplatní „domino efekt“ či „efekt zipu“ a supramolekula je vytvořena<sup>59</sup>.

Vodíková vazba vzniká mezi pozitivně nabitým vodíkem v polární vazbě ( $-X-H$ ) a oblastí s dostatečně vysokou elektronovou hustotou (IB). Prodloužení vazby  $X-H$  ( $r_1$ ) na vazbu

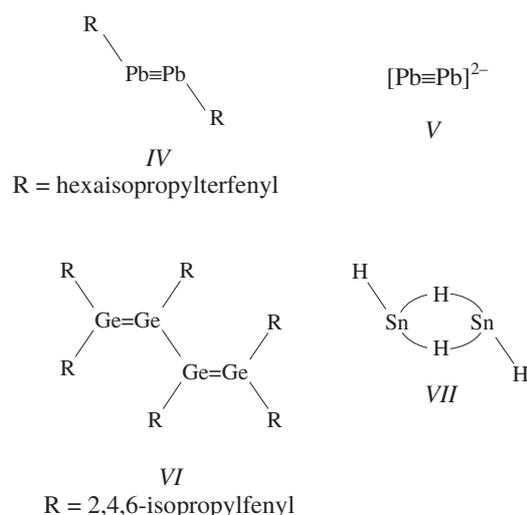


$X \cdots H$  ( $r_2$ ), vodíkovou vazbu, je dobře patrné na červeném posunu valenční vibrace. Kdysi rozšířené mínění připisovalo vznik vodíkové vazby výlučně coulombické interakci. Je to pohled zavádějící proto, že je výsledkem kompenzace ostatních příspěvků odpovídajících přitahování a odpuzování. Tuto učebnicovou informaci ukončím poznámkou o tom, že původní práce o této tematice čítají statisíce stránek a navíc existují desítky monografií. Z tohoto hlediska je udivující, že teprve na sklonku 20. století byl odhalen nový typ vodíkové vazby, v níž původní vazba  $X-H$  vykazuje po vytvoření atypické vodíkové vazby zkrácení, a tudíž modrý posun její valenční vibrace v infračerveném spektru. Tento nový typ vodíkové vazby<sup>60</sup> byl analyzován pomocí kvalitních neempirických výpočtů. Autoři tuto vazbu označují jako nepravou vodíkovou vazbu vyvolávající modrý posun vibrace  $-X-H$  ve vazbě  $-X-H \cdots B$ . Přesun elektronů z B do proton-donoru  $-X-H$  hraje úlohu u obou typů vodíkových vazeb: u pravé jde o přesun elektronů do antivazebného orbitalu  $\sigma^*$  vazby  $X-H$ , zatímco u nepravé vodíkové vazby jde o přesun do vzdálenější části molekuly proton-donoru. Dosud byly zkoumány vazby typu  $C-H \cdots B$ , kde B značí benzen, fluorobenzen, dále kyslík a fluor obsahující sloučeniny a halogenový anion. Přirozeně není důvod očekávat, že by nepravá vodíková vazba mohla hrát podobně enormní úlohu jako pravá vodíková vazba. Domnívám se však, že nejde o kuriozitu, ale o typ vazby, jež bude prokázána, mimo jiné, např. ve velmi mnoha krystalech.

V literatuře se objevuje pojem „halogen bonding“, tedy z analogie s pojmem vodíková vazba jde o halogenovou vazbu. V nedávné práci<sup>61</sup> se tento termín spojuje s tendencí halogenových atomů interagovat s volným elektronovým párem sousedních atomů. Autoři připisují této vazbě významnou úlohu v „krystalovém inženýrství“ a ve vytváření supramolekulových struktur molekul obsahujících různě vázaný dusík a halogen. Sám přistupuji k tomuto pojmu s určitými rozpaky, máje pocit, že pozorované interakce lze interpretovat pomocí „klasických“ vazebných interakcí, pomocí přenosu náboje a pomocí disperzní interakce. Skutečný krok vpřed lze bez náležité kvantověchemické analýzy učinit stěží.

#### 4. Expanze do vyšších řad periodického systému

Odhadem více než 90 % známých molekul sestává z méně než 10 % známých prvků, přičemž nejhojněji jsou zastoupeny atomy první řady periodického systému. O. Wichterle hovořil



o organické chemii jako o chemii první řady periodického systému.

Pokud jde o komplexy přechodných kovů a vzácných zemin, začala expanze už před mnoha lety. Naproti tomu systematické studie molekul různých typů, v nichž klíčový prvek probíhá celou grupou (především u hlavních skupin), studie pokusné i teoretické, jsou novějšího data. Na straně pokusné nejde zpravidla o snadnou práci, a pokud jde o kvantověchemické výpočty, jsou kvalitní, soustavně vypracované pseudopotenciály zahrnující klíčové relativistické korekce k dispozici teprve v posledním desetiletí. Kompletní výpočty *ab initio* jsou u polyatomových molekul, obsahujících mnohaelektronové atomy, neúnosně náročné.

Ve snaze lépe porozumět pojmu chemické vazby byla studována – přinejmenším formálně – obdoba acetylenů obsahujících olovo (IV). Délka vazby  $Pb-Pb$  činí 319 pm, a proto autoři<sup>62</sup> váhají, zda lze mluvit o trojně vazbě. Zatím nejkratší pokusně nalezená délka vazby<sup>63</sup>  $Pb-Pb$  činí 281 pm a byla nalezena v  $Pb$  analogu dianiontu acetyleny (V).

Spektrální evidence nasvědčuje tomu, že v hexasubstituted tetragermabutadienu<sup>64</sup> (VI) jsou přítomny dvě konjugované vazby  $Ge=Ge$ . Pozoruhodná struktura (VII) přísluší<sup>65</sup> hydridu dvojmocného cínu,  $Sn_2H_4$ .

Pro ověřování spolehlivosti výpočtů založených na pseudopotenciálech byly vždy, v únosném rozsahu, také prováděny výpočty se všemi elektrony; tak tomu bylo v grupách vzácných plynů, halogenů a chalkogenů<sup>66</sup>. U sloučenin halogenů je významné, že bývají k dispozici, obvykle s výjimkou astatu, i pokusná data<sup>67,68</sup>.

V této oblasti je třeba mít na mysli, že chemie sloučenin obsahujících prvky první řady periodického systému (Li až Ne) se liší výrazně od závislostí a pravidelností pozorovaných pro sloučeniny prvků 2. až 5. řady.

Zájem o chemii v této oblasti patrně poroste ze tří důvodů. Za prvé otázky podobnosti a rozdílnosti chemie prvků první řady a řad vyšších jsou zdaleka nedozkoumané; tato oblast slibuje nejedno překvapení. Za druhé se zdá dobře možným modifikovat vlastnosti a reaktivitu různých průmyslově zajímavých sloučenin obměnou atomů patřících k jedné grupě. A konečně za třetí se zdá, že více než čtvrtstoletí stará teoretická předpověď o existenci ostrůvků stability v blízkosti

atomů s pořadovým číslem  $Z = 114$  a  $Z = 126$  je správná<sup>69</sup>. V případě prvků se  $Z$  rovným 109 až 112 se podařilo připravit jen několik atomů s velmi krátkým poločasem života. U vyšších prvků vypadá situace příznivěji. V r. 1999 ohlásila laboratoř v Dubně izotopy atomů se  $Z = 114$ , 116 a 118, přičemž izotopy prvku se  $Z = 114$  měly poločas rozpadu 5 s a 1,5 min. Zdá se, že se lze přece jenom dočkat!

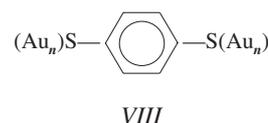
## 5. Pokusy s jednotlivými molekulami

Badatelé v oblasti molekulových věd vstoupili energicky do jedné z mezních oblastí. Počet studií fyzikálních a chemických vlastností u individuální, jediné molekuly vzrostl natolik, že nakladatelství Wiley Interscience začalo vydávat časopis nazvaný „Single Molecules“. Nakladatelství sděluje, že přehledný článek T. Yanagidy a Y. Ishii uveřejněný v prvním čísle tohoto časopisu v r. 2000 byl nejtěnějším přehledným článkem ze všech, jež vyšly ve 350 časopisech vydávaných nakladatelstvím. Byl nadepsán „Single Molecule Detection in Life Sciences“.

V převratné práci<sup>70</sup> byla souvislost mezi vloženou silou a vyvolanou distorzi studována prostředky klasické fyziky u jediné molekuly nukleové kyseliny (DNA). V posledních letech se daří definovaným způsobem protahovat či ohýbat individuální molekuly pomocí optických pinzet, ohebných mikrokrojekel či pomocí skanovacího silového mikroskopu (scanning force microscope – SFM), zvaného též atomový silový mikroskop<sup>71</sup>. Obecně jde o měření síly, kterou je nutno vynaložit k převedení zkoumané izolované molekuly z konformace výchozí na konečnou.

Z mnoha dalších studií zmíním alespoň dvě. Skanovací tunelovací mikroskopie (STM) umožnila zobrazovat atomové procesy na povrchu pevné fáze. Rušivě přítom dosti často působily interakce mezi hrotem mikroskopu a adsorbáty. Tyto rozladující poruchy se dočkaly velikého ocenění – bylo jich využito k manipulaci jednotlivých molekul či atomů na povrchu<sup>72</sup>. Důsledek je vpravdě velkolepý. Tyto procedury dosáhly takové úrovně, že jsme schopni vyvolávat a zkoumat rozmanité fyzikální a chemické procesy na úrovni jediné molekuly! Jsme na počátku éry, kdy bude možné studovat v jediné molekule základní chemické děje, tvorbu a zánik chemických vazeb. Tedy vlastně totéž, oč jde ve femtochemii, avšak prostředky zcela jinými.

Když se před 45 lety daly prvé pokusy o výzkum polovodivých a vodivých organických molekul, oponenti namítali (srov. stať 2.3.), že nepřekonatelnou svízel bude představovat navázání příslušné molekuly na součásti elektronického obvodu. Právě v tomto směru bylo dosaženo velkého pokroku. Dnes lze nejen měřit, ale i kvantověchemicky počítat vodivost jediné molekuly<sup>73</sup>. Zmíněná svízel je nepochybně dosud velkou překážkou při přechodu od nanochemie k nanotechnologii. Až jí bude možné rutinně překonávat, bude splněna významná podmínka pro nástup molekulové elektroniky. Zdá se, že prvé úspěšné kroky byly učiněny<sup>74</sup>. Skanovací tunelovací mikroskopie sehraje v této fázi důležitou úlohu. Bude používáno zařízení mající dva hroty vzdálené zhruba jeden nm. Pro teoretické studium elektronové vodivosti v molekule



byly zkombinovány formalismy Greenových funkcí a funkcionálu hustoty (DFT) (cit.<sup>73</sup>). Postup byl testován u 1,4-dithiobenzenu, přičemž několikaatomové klastry zlata napojené na atomy síry (VIII), umožnily napojení na zlaté přívody.

Pár slov zasluhují i další dvě práce. Ukazuje se, že elementární kroky chemických reakcí lze iniciovat skanovacím tunelovacím mikroskopem. Např. příprava difenyly<sup>75</sup> z jodbenzenu probíhá tak, že tunelující elektrony nejprve vyvolají disociaci vazby C–I. Provádí se to nastavením hrotu nad vazbou C–I a aplikací potenciálu 1,5 V po dobu několika sekund. Je výhodné, že potenciál této hodnoty nestačí na štěpení pevnějších vazeb C–C a C–H. Další manipulace („laterální manipulace“) vzdálí uvolněný atom I a konečně poslední operací se přiblíží k sobě dva fenyle, což vede ke vzniku difenyly.

Molekuly katenanů\* sestávají ze dvou v určité míře nezávislých složek. Mohou na pevném povrchu zaujímat různé kvarterní struktury<sup>76</sup>, přičemž přechodů mezi těmito strukturami lze využít při konstrukci zařízení fungujících na molekulové úrovni. STM studie se týkala katenanu, sestávajícího ze dvou cyklů o 87 atomech.

## 6. Další aktuální témata: ilustrace

Rozsah, atmosféra a úspěchy chemie 2002 nejsou samozřejmě spjaty toliko s tématy tvořícími body tohoto referátu, ale s desítkami dalších oblastí. Pro pouhou ilustraci jsem do této části vybral toliko dvě oblasti chemie, jež mají významné rozdílné i společné rysy. Prvá oblast má za sebou stoletou historii a pronikavě ovlivnila tvář 20. století: makromolekulová chemie. Druhá je mladá, má však za sebou už řadu výrazných úspěchů: materiálová věda. Leccos nasvědčuje tomu, že pronikavě ovlivní tvář 21. století. Obě oblasti se vyznačují dalekosáhlou interdisciplinarní. Materiálová věda byla taková od doby svého vzniku, kdežto makromolekulová chemie se výrazně interdisciplinární stala před několika lety, v době, kdy se v určitém smyslu vyčerpalo její klasické téma, totiž umělé polymery a polykondenzáty. Dnešní partneři makromolekulové chemie představují obory, které jí byly kdysi vzdálené či prostě neexistovaly. Jde např. o rozsáhlé části biologie, lékařství, materiálového výzkumu a informační technologie. Kombinatorální materiálový výzkum přitahuje pozornost mnoha firem. Miniaturizace a automatizace přispívá k rychlému získání vzorků nových materiálů, jež se podrobují screeningu.

Existují snahy povznést chemoterapii pomocí vhodných makromolekulových nosičů na terapii cílenou, jež předchází zaplavení celého organismu léčivem. Na obratně zvolenou makromolekulu je vedle léčiva (chemoterapeutika) navázána antilátka specifická pro cílový orgán; teprve v tomto postiženém orgánu se uvolní vlastní léčivo<sup>77,78</sup>. Přirozeně tento postup má šanci nalézt široké uplatnění v humánní medicíně.

Druhá ilustrace – vybraná z mnoha – se týká obou sledo-

\* Katenany jsou sloučeniny tvořené dvěma (či několika) vzájemně pronikajícími cykly; jde o obdobnou situaci, jakou známe u článků řetězu.

vaných oblastí, konkrétně materiálu, v němž jsou nanočástice zlata (13 nm v průměru) vneseny do polyakrylamidového gelu zpevněného příčnými vazbami<sup>9</sup>. Polymer bobtná ve vodě a smršťuje se v acetonu. Právě tohoto mechanismu, jakéhosi „dýchání“ vyvolaného střídavým působením zmíněných kapalin, se používá k vestavění nanočástic zlata do gelu.

Existuje přesvědčivý doklad o mohutném rozmachu obou oblastí. V prospektu jediného nakladatelství (jistě důležitého), Wiley-VCH, v novinkách pro rok 2002 se uvádí pět časopisů spjatých s materiálovým výzkumem, přičemž nejúspěšnější z nich, „Advanced Materials“ dosáhl v r. 2000 impaktového faktoru 5,5. Makromolekulová chemie je předmětem sedmi časopisů, přičemž „Journal of Polymer Science“ vychází ve dvou řadách týkajících se chemie a fyziky. Vedle toho čtyři časopisy jsou spjaty s biopolymery. Stránkový rozsah, případně počet čísel u mnoha časopisů roste.

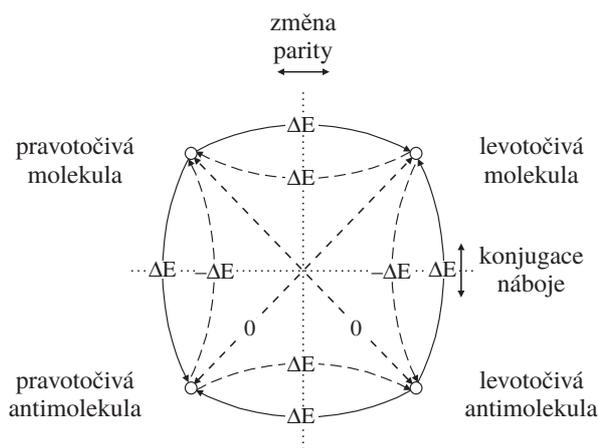
## 7. Symetrie: Teorem CPT

Pomocí úvah o geometrické symetrii molekul i pevné fáze lze často získat přímočaře a s minimálními náklady cenné informace o fyzikálních vlastnostech a reaktivitě zkoumaných systémů. Navíc je to krásná teorie symetrie, jedinečné spojení matematiky, fyziky a chemie, jež činí její použití pro mnohé chemiky lákavým. Jako chemici máme tendenci ignorovat skutečnost, že omezíme-li se na pouhou prostorovou symetrii, můžeme dospět u vlastností molekul, které závisí na pohybu, k nesprávným výsledkům. V takovém případě je nutné doplnit standardní úvahu o symetrii argumenty založenými na změně znaménka časových souřadnic, na což v chemii nejsme zvyklí<sup>79</sup>.

Invariance (neměnnost) fyzikálního zákona vůči rozmanitým operacím symetrie znamená zpravidla existenci *zákonu zachování*. Invariance kvantověmechanického hamiltoniánu vůči operátoru prostorové symetrie znamená, že symetrie představuje konstantu pohybu, a odtud plyne požadavek o zachování orbitalové či stavové symetrie v průběhu chemické reakce. To ovšem je přesně to, co vyjadřují Woodwardova-Hoffmannova pravidla.

Typy symetrie, jež vystupují v teoremu CPT, dobře známém ve fyzice, především jaderné, jsou tři. Symboly C, P a T značí prvá písmena slov Charge, Parity a Time. Nábojová konjugace (reprezentovaná operátorem C) přeměňuje částice v antičástice, tedy atomy v antiatomy, elektrony v pozitrony atd. Operátor parity P je znám lépe: inverzí v počátku souřadného systému souřadnic částic mění u prostorových souřadnic znaménka;  $x$  přechází v  $-x$  atd. Molekuly přecházejí touto operací v molekuly nerozlišitelné od výchozích, pokud nejde o molekuly chirální. U nich jeden enantiomer přechází v enantiomer opačný. Zbývá dodat, že T je operátor obrácení času v tom smyslu, že časovou souřadnici  $t$  mění v  $-t$ . Nezmění-li se rovnice popisující fyzikální zákon pod vlivem této operace, hovoří se o případu zachování invariance vůči obrácení času. Obrácení času si lze představit nejlépe jako obrácení pohybu; v žádném případě nejde o zpětný tok času<sup>79</sup>.

Od časů Pasteurových víme, že chemická reaktivita optických antipodů je různá. Naproti tomu si byli chemici sto let absolutně jisti shodností energie optických antipodů. Z teoremu CPT však jednoznačně plyne, že slabé interakce rozlišují, čili jsou diskriminativní, mezi chirální molekulou a jejím



Obr. 2. Změny energie provázející přechody jednak mezi pravotočivou a levotočivou molekulou a jednak mezi molekulou a antimolekulou

zrcadlovým obrazem a mezi molekulou a antimolekulou. Tato schopnost diskriminovat je výsadou slabých interakcí; silné, elektromagnetické a gravitační síly tuto způsobnost nemají. Teorem CPT říká, že i když je jedna či více invariancí (tedy C či P či T) porušena, invariance vůči kombinované operaci CPT vždy platí. Přesvědčili jsme se o tom u souboru trisubstituovaných chirálních derivátů methanu tím<sup>80</sup>, že jsme ukázali, že energetický rozdíl mezi oběma enantiomery má stejnou absolutní hodnotu jako energetický rozdíl mezi chirální molekulou a její antimolekulou (obr. 2).

Lze se ptát, proč věnovat tolik pozornosti jevu tak speciálnímu. Důvody jsou dva. Za prvé jde o jev tak fundamentální, že by bylo neomluvitelné se o něj nezajímat<sup>81</sup>. Je navíc spojen s úsilím změřit rozdíl energie mezi enantiomery. Jde o rozdíl zhruba o tři řády menší, než je dnes možné pokusně určit<sup>81</sup>. Nepochybuji však o tom, že za pět či třeba za pár desítek let bude měřitelný. Navíc práce v této oblasti umožňuje přechod z obvyklé elektromagnetické kvantové chemie ke kvantové chemii elektroslabé<sup>82</sup>. Navíc operátor obrácení času T obrací momenty a spiny všech částic v systému<sup>79</sup> a rozlišuje vlastnosti „sudé“ při působení T (elektrický dipólový moment) a „liché“ (magnetický dipólový moment). Při studiu magnetických vlastností, tak důležitých u některých témat materiálové vědy, to je nutno brát v úvahu.

Konečně se zdá, že zatím nevyřešená otázka preference L-aminokyseliny a D-cukrů v živých organismech možná bude – spolu s dalším mechanismem – interpretována pomocí jevů, o nichž byla řeč v této stati.

## 8. Experimentální metody pro určování konstituce

Široké je spektrum metod, které slouží pro určování konstituce; o volbě metody rozhoduje povaha řešené úlohy. A tak se i nadále budou objevovat situace, kdy elektronická spektroskopie (v UV a viditelné oblasti), vibrační spektroskopie (kombinace IČ a Ramanovy spektroskopie) či cirkulární dichroismus umožní nalézt řešení, či alespoň přispět k jeho dosažení. Současně je však pravda, že v této oblasti hrají

ústřední roli tři metody a je s nimi spojeno odhadem přes 90 % zdárných určení konstituce. Jde o rentgenostrukturální analýzu, nukleární magnetickou rezonanci a o hmotnostní spektrometrii. Prvá z metod dosáhla v průběhu 90. let udivující dokonalosti a díky rozvoji počítačů velké produktivity. Je použitelná u látek s molekulovou hmotností až několik set kDa. Příprava vyhovujících monokrystalů zkoumané látky představuje někdy svízelnou úlohu. Pokud jde o použití NMR k určování konstituce, znamenalo zavedení dvourozměrných metod krok směrem k rutinnímu využívání této rezonanční procedury k určování struktury peptidů a bílkovin o velikosti do 50 kDa (cit.<sup>83</sup>). Významné rozšíření možností představuje využití vysokorozlišovací NMR u vzorků v pevné fázi. Nejen, že odpadají svízele s rozpustností, ale tato metoda dovoluje určovat strukturu např. bílkovin v jejich přirozeném prostředí<sup>84</sup>. Jako příklad určení struktury může posloužit struktura enzymu (47 kDa), který hraje ústřední úlohu při syntéze riboflavinu a stanovení jeho vazebného místa.

V Německu probíhá instalace NMR spektrometru 900 MHz a v Japonsku je pokročilý vývoj zařízení 1 GHz. Léta trvající růst intenzity magnetického pole je spojen s růstem citlivosti a s vyšší rozlišovací schopností<sup>85</sup>. Růst protonové rezonance z 800 na 900 MHz (růst intenzity pole o 12,5 % a přibližně 20 % růst citlivosti) je vykoupěn růstem nákladů o 250 %; zařízení stojí asi 320 milionů Kč. Navíc provoz zařízení je mimořádně nákladný. Skutečný smysl této ohromné investice jest spatřovat v nových možnostech studia relaxačního chování molekul.

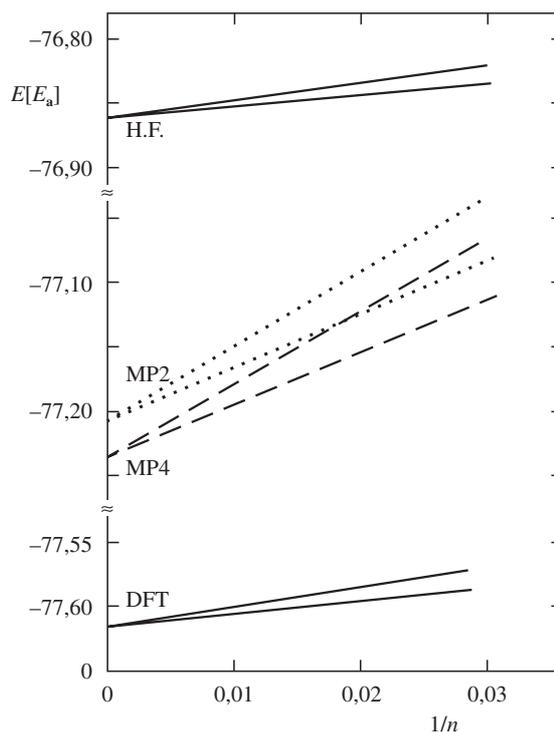
Oblast využití NMR je tak rozsáhlá a často tak speciální, že lze stěží nalézt přístupnou a širokou informaci o situaci v celé oblasti. Rozsáhlou informaci nabízí encyklopedie<sup>86</sup>, která se týká mnoha oblastí a specializací. Organičtí chemici patrně ocení dílo Claridge<sup>87</sup>.

Pokud jde o současnou RTG krystalografii, její skutečněná díla i ambice patrně zapůsobí i na velmi rezervovaného pozorovatele. Věřím, že nezůstane u úmyslu a že se za pár let podaří nejen připravit většinu enzymů působících v lidském těle v krystalické formě, ale též určit jejich strukturu. Ostatně tak tomu bude i s mnoha dalšími složkami živé hmoty. Jediné informace o současném stavu a vyhlídkách jsou k dispozici na webových stránkách<sup>88</sup>.

I v oblasti hmotnostní spektrometrie je orientace na extrémně složité biologické systémy velice rozsáhlá. Týká se to např. charakterizace intaktních mikroorganismů<sup>89</sup> či oblasti proteomiky<sup>90,91</sup>. Byla by věru škoda nezmínit roli hmotnostní spektrometrie v kombinatoriální chemii ve výzkumu léčiv<sup>92</sup> a využití kvantověchemických metod<sup>93</sup>.

## 9. Molekulová kvantová mechanika a příbuzné metody

Před 50 lety začala kvantová chemie pronikat do chemické veřejnosti prostřednictvím jednoduché metody molekulových orbitalů (HMO). Na počátku významně převažovali skeptici nad podporovateli: po 10–15 letech dosáhla kvantová teorie chemické vazby, ve verzi kvalitativní i kvantitativní, určitého uznání. Průlom, lze-li to tak nazvat, byl dovršen v devadesátých letech, kdy chemici vzali výpočty do vlastních rukou. Šlo o období přivlastnění si IČ spektroskopie před 50 lety a NMR před asi 40 lety. Pokud je základní stav studovaného systému



Obr. 3. Závislost celkové energie acetyleny ( $E$ ) počítané na Hartreeho-Fockově (H.F.) úrovni a na úrovni se zahrnutím korelační energie (MP2, MP4) na reciproční hodnotě celkového počtu funkcí v bázi ( $n$ ). Extrapolací k hodnotě  $1/n = 0$ , tedy pro nekonečně velkou bázi, lze získat dobrý odhad pro hodnotu Hartreeho-Fockovy limity; v případě energie MP4 se získá odhad přesné nerelativistické energie. Energie získané pomocí teorie hustoty funkcí, označené DFT, (na obrázku dvě nejnižší ležící závislosti) splňují také lineární závislost, je však zřejmé, že jejich absolutní hodnoty, protože leží pod přesnou nerelativistickou hodnotou, nemají fyzikální smysl; jejich změny jsou však smysluplné a užitečné. U párů lineárních závislostí příslušejí horní závislosti kvalitnějším bázím

popsatelný jedním determinantem, chemici díky přístupnosti počítačů a kvalitních programů asistenci specialistů nepotřebují. V takových případech lze dosáhnout u rozsahem zajímavých molekul chemické přesnosti.

Zde přirozeně nejde o přehled současného stavu výpočtových metod kvantové chemie a molekulové dynamiky, jde toliko o určité rysy současných studií s přihlédnutím k vývojovým tendencím. Za tendenci z nejnápadnějších pokládám – stejně jako v oblasti experimentů – nástup do oblasti velkých molekul. Až na drobné výjimky budu mít tuto tendenci na zřeteli.

Je však vhodné začít zmínkou o tom, že dnešní extrapolací metody dovolují s rozumnými náklady kvalitně odhadnout nejen u atomů a dvou- či třiatomových molekul Hartreeho-Fockovu limitu a přesnou nerelativistickou energii. Postupuje se tak, že se pro několik různě rozsáhlých bází atomových funkcí vypočítá celková energie jak Hartreeho-Fockovou metodou, tak na úrovni se zahrnutím elektronové korelace. V naší laboratoři se osvědčují extrapolace celkové energie ( $E$ ) k nule v souřadnicích  $E$  a  $1/n$ , kde  $n$  je počet atomových funkcí v bázi (obr. 3). Z analýzy výsledků je patrné, že pro kvalitní výpočty je báze „double-zeta“ nedostatečná a dále, že metoda „coup-



8. Quack M.: *Chimia* 55, 753 (2001).
9. Pardo-Yissar V., Gabai R., Shipway A. N., Bourenko T., Willner I.: *Adv. Mater.* 13, 1320 (2001).
10. Niemeyer C. M.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 40, 4128 (2001).
11. Breuning E., Ziemer U., Lehn J.-M., Wegelius E., Rissanen K.: *Eur. J. Inorg. Chem.* 2001, 1515.
12. Gauthier D., Baillargeon P., Drouin M., Dory Y. L.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 40, 4635 (2001).
13. Schmuck C., Wienand W.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 40, 4363 (2001).
14. El-ghayoury A., Schenning A. P. H. J., van Hal P. A., van Duren J. K. J., Janssen R. A. J., Meijer E. W.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 40, 3660 (2001).
15. Szejtli J.: *Chem. Rev. (Washington, D.C.)* 98, 1743 (1998).
16. Craighead H. G.: *Science (Washington, D.C.)* 290, 1532 (2000).
17. Bock H., Gharagzloo-Hubmann K., Sievert M., Priesner T., Havlas Z.: *Nature* 404, 267 (2000).
18. Raja R., Khimyak T., Thomas J. M., Hermans S., Johnson B. F. G.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 40, 4638 (2001).
19. Aiken, III J. D., Finke R. G.: *J. Mol. Catal. A: Chemical* 145, 1 (1999).
20. Crooks R. M., Zhao M., Sun L., Chechik V., Yeung L. K.: *Acc. Chem. Res.* 34, 181 (2001).
21. Löwen H., Watzlawek M., Likos C. N., Schmidt M., Jusufi A., Denton A. R.: *J. Phys.: Condens. Matter* 12, 465 (2000).
22. Koutecký J., Zahradník R.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 25, 811 (1960).
23. Rouhi A. M.: *Chem. Eng. News* 2001 (July 30), 46 (článek o práci a výsledcích skupiny J. Michla (Univ. of Boulder, CO)).
24. Vacek J., Michl J.: *New J. Chem.* 21, 1259 (1997).
25. Vacek J., Michl J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 5481 (2001).
26. Chia S., Cao J., Stoddart J. F., Zink J. I.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 40, 2447 (2001).
27. Jutzi P., Lenze N., Neumann B., Stammler H.-G.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 40, 1424 (2001).
28. Chang C.-H., Hwang K. C., Liu C.-S., Chi Y., Carty A. J., Scoles L., Peng S.-M., Lee G.-H., Reedijk J.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 40, 4651 (2001).
29. Kavan L.: *Chem. Rev. (Washington, D.C.)* 97, 3061 (1997).
30. Whitby R. L. D., Hsu W. K., Boothroyd C. B., Fearon P. K., Kroto H. W., Walton D. R. M.: *CHEMPHYSICHEM* 2001, 620.
31. Holzinger M., Vostrowsky O., Hirsch A., Hennrich F., Kappes M., Weiss R., Jellen F.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 40, 4002 (2001).
32. Heeger A. J.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 40, 2591 (2001).
33. Sauvage J.-P. (ed.): *Structure and Bonding* 99: *Molecular Machines and Motors*, 2001.
34. Tour J. M.: *Acc. Chem. Res.* 33, 791 (2000).
35. Polák R., Zahradník R.: *Kvantová chemie*, str. 411. SNTL, Praha 1985.
36. Schwarz H., Schröder D.: *Pure Appl. Chem.* 72, 2319 (2000).
37. Rybtchinski B.: *Angew. Chem.* 111, 919 (1999).
38. Dyker G.: *Angew. Chem.* 111, 1808 (1999).
39. Centi G., Wichterlová B., Bell A. T. (ed.): *Catalysis by Unique Metal Ion Structures in Solid Matrices*. Kluwer, Dordrecht 2001.
40. Cornils B., Herrmann W. A.: *Applied Homogeneous Catalysis with Organometallic Compounds*, sv. 1 a 2. Wiley-VCH, Weinheim 1996.
41. Margolin A. L., Navia M. A.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 40, 2205 (2001).
42. Merlau M. L., del Pilar Mejia M., Nguyen S. T., Hupp J. T.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 40, 4239 (2001).
43. Brakmann S.: *CHEMBIOCHEM* 2, 865 (2001).
44. Citováno podle *Nachr. Chem.* 49, 1012 (2001).
45. Merckx M., Kopp D. A., Sazinsky M. H., Blazyk J. L., Müller J., Lippard S. J.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 40, 2783 (2001).
46. Kollman P. A., Kuhn B., Donini O., Perakyla M., Stanton R., Bakowies D.: *Acc. Chem. Res.* 34, 72 (2001).
47. Pfaltz A.: *Chimia* 55, 708 (2001).
48. Dalko P. I., Moisan L.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 40, 3727 (2001).
49. Hoffmann R.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 40, 3337 (2001).
50. Lowe G.: *Chem. Soc. Rev.* 24, 309 (1995).
51. *Chem. Rev. (Washington, D.C.)* 97 (2) 1997.
52. *Acc. Chem. Res.* 29 (3) 1996.
53. Lehn J.-M.: *Chem. Eur. J.* 5, 2455 (1999).
54. Zahradník R., Michl J., Pancíř J.: *Tetrahedron* 22, 1355 (1966).
55. Rudkevich D. M., Rebek, Jr. J.: *Eur. J. Org. Chem.* 1999, 1991.
56. Ashton P. R., Baldoni V., Balyani V., Credi A., Hoffmann H. D. A., Martínez-Díaz M.-V., Raymo F. M., Stoddart J. F., Venter F.: *Chem. Eur. J.* 7, 3482 (2001).
57. Nguyen V. T., Ahn P. D., Bishop R., Scudder M. L., Craig D. C.: *Eur. J. Org. Chem.* 2001, 4489.
58. Berl V., Huc I., Khoury R. G., Lehn J.-M.: *Chem. Eur. J.* 7, 2810 (2001).
59. Archer E. A., Sochia A. E., Krische M. J.: *Chem. Eur. J.* 7, 2059 (2001).
60. Hobza P., Havlas Z.: *Chem. Rev. (Washington, D.C.)* 100, 4253 (2000).
61. Metrangolo P., Resnati G.: *Chem. Eur. J.* 7, 2511 (2001).
62. Pu L., Twamley B., Power P. P.: *J. Am. Chem. Soc.* 122, 3524 (2000).
63. Rutsch P., Huttner G.: *Angew. Chem.* 112, 3852 (2000).
64. Schäfer H., Saak W., Weidenbruch M.: *Angew. Chem.* 112, 3847 (2000).
65. Eichler B. E., Power P. P.: *J. Am. Chem. Soc.* 112, 8785 (2000).
66. Hobza P., Burda J. V., Zahradník R.: *Polish J. Chem.* 72, 1497 (1998).
67. Burda J. V., Hobza P., Zahradník R.: *Chem. Phys. Lett.* 288, 20 (1998).
68. Burda J. V., Hobza P., Zahradník R.: *Chem. Phys. Lett.* 303, 248 (1999).
69. Gelletly B.: *Chem. Br.* 2000 (March), 40.
70. Smith S. B., Finzi L., Bustamante C.: *Science (Washington, D.C.)* 258, 1122 (1992).
71. Samori B.: *Chem. Eur. J.* 6, 4249 (2000).

72. Hla S.-W., Meyer G., Rieder K.-H.: CHEMPHYSICHEM 2, 361 (2001).
73. Derosa P. A., Seminario J. M.: J. Phys. Chem., B 105, 471 (2001).
74. Reed M. A., Zhou C., Muller C. J., Burgin T. P., Tour J. M.: Science (Washington, D.C.) 278, 252 (1997).
75. Hla S.-W. Bartels L., Mezer G., Rieder K.-H.: Phys. Rev. Lett. 85, 2777 (2000).
76. Samorí P., Jäckel F., Ünsal Ö., Godt A., Rabe J. P.: CHEMPHYSICHEM 2001, 461.
77. Ulbrich K., Šubr V., Strohalm J., Plocová D., Jelínková M., Říhová B.: J. Controlled Release 64, 63 (2000).
78. Garnett M. C.: Adv. Drug Delivery Rev. 53, 171 (2001).
79. Barron L. D., Buckingham A. D.: Acc. Chem. Res. 34, 781 (2001).
80. Jungwirth P., Skála L., Zahradník R.: Chem. Phys. Lett. 161, 502 (1989).
81. Quack M.: Nova Acta Leopoldina 81, 137 (1999).
82. Berger R., Quack M.: J. Chem. Phys. 112, 3148 (2000).
83. Detken A., Ernst M., Meier B. H.: Chimia 55, 844 (2001).
84. Kelly M. J. S., Ball L. J., Krieger C., Yu Y., Fischer M., Schiffmann S., Schmieder P., Kühne R., Bermel W., Bacher A., Richter G., Oschkinat H.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98, 13025 (2001).
85. Kessler H.: Nachr. Chem. 49, 138 (2001).
86. *Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance* (Grant D. M., Harris R. K., ed.), sv. 1–8. Wiley, Chichester 1996.
87. Claridge T. D. W.: *High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry*. Elsevier Science, Oxford 1999.
88. <http://www.hwi.buffalo.edu/iucr/IUCr-News/iucrnewsletters.html>
89. Fenselan C., Demirev P. A.: Mass Spectrom. Rev. 20, 157 (2001).
90. Peng G., Gygi S. P.: J. Mass Spectrom. 36, 1083 (2001).
91. Aebersold R., Goodlett D. R.: Chem. Rev. (Washington, D.C.) 101, 269 (2001).
92. Kassel D. B.: Chem. Rev. (Washington, D.C.) 101, 255 (2001).
93. Alcamí M., Yanez M.: Mass Spectrom. Rev. 20, 195 (2001).
94. Šroubková L., Zahradník R.: Helv. Chim. Acta 84, 1328 (2001).
95. Feyereisen M., Fitzgerald G., Komornicki A.: Chem. Phys. Lett. 208, 359 (1993).
96. Jurečka P., Nachtigall P., Hobza P.: Phys. Chem. Chem. Phys. 3, 4578 (2001).
97. Gill P. M. W., Schleyer P. v. R. (ed.): *Encyclopedia of Computational Chemistry*, sv. 1, str. 678. Wiley, Chichester 1998.
98. Hobza P., Šponer J., Reschel T.: J. Comput. Chem. 16, 1315 (1995).
99. Hall R. J., Hindle S. A., Burton N. A., Hillier I. H.: J. Comput. Chem. 21, 1433 (2000).
100. Friesner R. A., Dunietz B. D.: Acc. Chem. Res. 34, 351 (2001).
101. van Gunsteren W., Bakowies D., Bürgi R., Chandrasekhar I., Christen M., Daura X., Gee P., Glättli A., Hansson T., Oostenbrink C., Peter C., Pitera J., Schuler L., Soares T., Yu H.: Chimia 55, 856 (2001).
102. Kollman P. A., Massova I., Rezes C., Kuhn B., Huo S., Chong L., Lee M., Lee T., Duan Y., Wang W., Donini O., Cieplak P., Srinivasan J., Case D. A., Cheatham, III T. E.: Acc. Chem. Res. 33, 889 (2000).

**R. Zahradník** (*J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*):  
**Chemistry 2002**

An attempt was made to describe essential features of the fields of chemistry that appear to be of immediate interest at the beginning of the 21st century. Attention was paid to preparation of new molecules and materials, particularly to ultrarapid processes, extensive systems, molecular machines, catalysis, asymmetric syntheses, and combinatorial chemistry. Moreover, the following subjects were briefly outlined: expansion to higher periods of the periodic system of elements, experiments with individual molecules, symmetry and the CPT theorem, experimental techniques for structure elucidation, molecular quantum mechanics and other methods of computational chemistry.

### Poznámka při korektuře

Pár řádek o molekulách udivujících struktur bych rád doplnil odkazem na práci nadepsanou *On Molecular Gyroscopes, Matroshka Dolls, and Other „Nano“-Toys*, Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 41, 1513 (2002), jejímž autorem je C. A. Schalley.

Dr. B. Friedrich (Harvard Univ., Cambridge, MA) po přečtení rukopisu této práce navrhl zmínit ve statí 7 pokusy pátrající po narušení symetrie časové inverze, jakožto i experimenty testující narušení symetrizačního postulátu. To se nepodařilo, ale zájemci mohou ode mne dostat kopii dopisu Dr. Friedricha, kterému patří můj dík.

Velice aktuální kvantové molekulové biologii je věnováno celé prvé číslo časopisu Int. J. Quantum Chem. 88 (2002).

## PREHĽAD ANALÝZY PYRETHROIDOV METÓDOU VYSOKOÚČINNEJ KVAPALINOVEJ CHROMATOGRAFIE

KRISTÍNA ROMÁNOVÁ a MILAN HUTTA

Katedra analytickej chémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Mlynská dolina CH-2, 842 15 Bratislava, Slovenská republika  
e-mail: romanova@fns.uniba.sk, hutta@fns.uniba.sk

Došlo dňa 21.VIII.2001

Kľúčové slová: HPLC, pyrethroidy, pesticídy, achirálna separácia, chirálna separácia

### Obsah

1. Úvod
2. Analýza pyrethroidov
  - 2.1. Achirálna separácia na reverzných fázach
  - 2.2. Achirálna separácia na normálnych fázach
  - 2.3. Chirálna separácia s využitím polárnych mobilných fáz
  - 2.4. Chirálna separácia s využitím nepolárnych a stredne polárnych mobilných fáz
3. Záver

### 1. Úvod

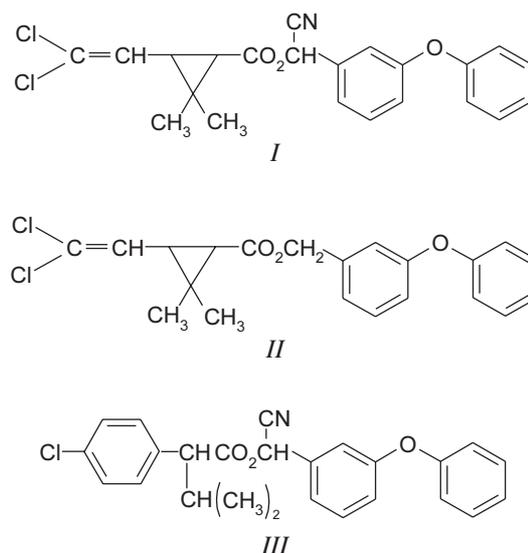
Človek sa snaží zlepšovať svoje životné podmienky, ale jeho úsilie zabezpečiť si dostatočné zásoby potravy sa stavajú do cesty rôzni škodcovia a choroby napádajúce poľnohospodárske plodiny, hospodárske zvieratá a aj človeka samotného<sup>1</sup>. Proti týmto vplyvom sa neustále bojuje používaním pesticídov. Posledné roky rastie spotreba rôznych pesticídov, ktoré vzbudzujú stále väčšie problémy a obavy zo znečistenia životného prostredia, ku ktorému dochádza ich aplikáciou. Pesticídy sa najčastejšie delia podľa použitia proti škodlivým činiteľom. Najrozšírenejšími skupinami sú *i*) insekticídy – pôsobiace na hmyz, *ii*) fungicídy – ničiace škodlivé parazitické huby a plesne, *iii*) herbicídy – používané proti burinám, ktoré sa vyskytujú v porastoch kultúrnych rastlín<sup>1,2</sup>. Ostatné skupiny sú menej významné.

Medzi najpoužívanejšie insekticídy patria pyrethroidy, s ktorými sa bežne dostávame do kontaktu vo forme rozprašovačov, posypov, elektroodpuzdovačov pri ničení hmyzu, alebo impregnačných roztokov pri penetrovaní stavebného materiálu, papiera či textílií. Po nečakanom objave pyrethroidov tieto rýchlo dosiahli komerčnú dôležitosť a v súčasnosti zaberajú viac ako 20 % svetového trhu s insekticídmí<sup>3</sup>. Pyrethroidy sú syntetické insekticídy odvodené od účinných látok vyskytujúcich sa v *Chrysanthemum cinerariaefolium* ako prírodné pyrethríny<sup>1</sup>. Pyrethríny sú biologické produkty s nižšou toxicitou pre cicavce ako syntetické pyrethroidy. Pyrethríny sú často

používané ako repelenty, ich nevýhodou je však nedostatočná perzistencia, a preto sa musia zmiešavať so synergickými látkami. Práve tento dôvod viedol k výrobe vysoko aktívnych a na svetle stabilných syntetických pyrethroidov. Pyrethroidy sa zaraďujú do triedy neuroaktívnych insekticídov<sup>4,5</sup> s krátkou životnosťou a s nízkou toxicitou pre cicavce<sup>6,7</sup>. Napriek tomu sa objavili informácie o ich nepriaznivom vplyve na zdravie človeka, pričom niektoré syntetické pyrethroidy sú už podozrivé z karcinogenity<sup>8</sup>. O toxicite pyrethroidných insekticídov pre cicavce bolo popísaných niekoľko prác<sup>9–11</sup>. O syndrómoch otravy, prejavoch a terapii pojednáva práca Raya<sup>12</sup>.

Z hľadiska chemickej štruktúry sa syntetické pyrethroidy rozdeľujú do troch skupín (obr. 1): *a*) s  $\alpha$ -CN skupinou (napr. cypermethrin, cyfluthrin, deltamethrin), *b*) bez skupiny CN (napr. permethrin, allethrin), *c*) bez cyklopropánového kruhu (napr. fenvalerat,  $\tau$ -fluvalinat)<sup>5</sup>. Pyrethroidy sú syntetizované, testované, označované a používané ako jednoduché, veľmi aktívne izoméry, alebo ako izomérna zmes obsahujúca dva alebo viac rôznych stereoizomérov závislých od počtu chirálnych centier v molekulách a spôsobu syntézy<sup>13</sup>. Použitie pyrethroidov je nevyhnutné pre zabezpečenie kvality životnej úrovne, a preto sa v dnešnej dobe vynakladá úsilie na redukcii rizík spojených s ich aplikáciou v životnom prostredí.

Jednou z možností, ako znížiť zataženie životného prostredia, je objav, vývoj a zavedenie na trh takých biologicky účinných látok, ktoré pôsobia selektívne na určité biochemické procesy v cieľových organizmoch. Hlavným prostriedkom na dosiahnutie tohoto cieľa sa javí práve chiralita. So stereoizomérmí, vrátane optických izomérov, sa stretávame aj u pyrethroidov. Väčšina vyrábaných pyrethroidov je produk-



Obr. 1. Príklady štruktúrnych vzorcov pyrethroidov z troch základných skupín; cypermethrin (I), permethrin (II), fenvalerat (III)

vaných vo forme racemických zmesí a zmesí s rôznou enantiomernou čistotou, a to napriek skutočnosti, že len jeden enantiomér je biologicky aktívny, kým druhý sa môže prejavovať ako nečistota. Nahrádzanie racemických zmesí čistými enantiomermi umožňuje významnú redukciu množstva pyrethroidov aplikovaných do životného prostredia. Zníženie koncentrácie a počtu balastných látok zaťažujúcich životné prostredie vedie aj k zníženiu pravdepodobnosti nepriaznivého účinku týchto látok a ich degradačných produktov na zdravie človeka. Pri porovnaní biologických aktivít stereoizomérov syntetických pyrethroidov obsahujúcich zvyšok kyseliny chryzantémovej sa zistilo, že deriváty kyseliny chryzantémovej, ktoré obsahujú (1*R*)-(+)-kyslú zložku, majú vyššiu insekticídnu aktivitu ako tie, ktoré majú (1*S*)-(–)-kyslý ester<sup>14</sup>. (1*R*)-izomér kyseliny chryzantémovej je časťou pyrethrinu, a preto nie je prekvapujúce, že komerčné produkty sú odvodené od štruktúry (1*R*)-chryzantémovej kyseliny. Napriek tomu, že (1*R*)-izomér pridelujú vyššiu insekticídnu aktivitu, sú rozdiely medzi (1*R*)- a (1*S*)- (a *trans*- a *cis*-) izomermi v ich toxicite pre cicavce malé<sup>15</sup>.

Pre vývoj a testovanie nových preparátov vo vyššie spomínaných oblastiach je potrebné mať k dispozícii nástroje pre analýzu chirálnych látok. V súčasnosti je rozvíjaných viac metód pre analýzu chirálnych látok a vysokoúčinná kvapalinová chromatografia (HPLC) je jednou z efektívne využívaných metód. HPLC je používaná samostatne, ale aj v multidimenzionálnych separáciách. Z uvedeného vyplýva, že problematika analýzy pyrethroidných látok v životnom prostredí je aktuálnou témou pre vedecký výskum.

## 2. Analýza pyrethroidov

Pre stanovenie pyrethroidov a pyrethrinov boli použité rôzne analytické metódy uvedené aj v práci Dombeka<sup>16</sup>. Metódy pre analýzu pyrethroidov v rôznych matriciach zahŕňajú extrakciu polárnym rozpúšťadlom alebo extrakciu tuhú fázou, vyčistenie adsorpčnou alebo gélovou permeačnou chromatografiou. Stanovenie sa uskutočňuje plynovou chromatografiou (GC) s detektorom elektrónového záchytu (ECD) (cit.<sup>17–25</sup>), s plameňom ionizačným detektorom (FID) (cit.<sup>25–28</sup>), alebo hmotnostným spektrometrickým detektorom (MS) (cit.<sup>29,30</sup>), alebo HPLC so spektrofotometrickou detekciou v ultrafialovej oblasti spektra (UV) (cit.<sup>31</sup>), infračervenou spektroskopiou (IČ) (cit.<sup>32</sup>), rádiometrickým detektorom<sup>33</sup>, rádiometrickým detektorom s kvapalným scintilátorom<sup>34</sup> alebo polarimetrom<sup>35</sup>. Tieto dve metódy (GC a HPLC) sú najpoužívanejšie, ale okrem nich sa používajú aj iné aplikácie, ako je superkritická fluidná extrakcia<sup>36–38</sup>, micelárna elektrokinetická chromatografia (MECC) (cit.<sup>39</sup>), polarografia<sup>40</sup>, voltametria<sup>41,42</sup>, spektrofotometria<sup>43</sup>, kapilárna elektroforéza (CE) s UV detektorom a fluorescenčným detektorom laserom indukovanej fluorescencie (LIF) (cit.<sup>44,45</sup>), izotachoforéza (ITP) (cit.<sup>46,47</sup>) a imunoassay<sup>48,49</sup> metódy. Di Muccio a spol.<sup>50</sup> študovali metódu využívajúcu delenie na základe dispergovania pevnej matrice (sorbentu) do tekutých vzoriek (SMDP) a následnom oddelení tohto sorbentu filtráciou v kombinácii s gélovou chromatografiou na minikolóne pre analýzu pyrethroidných rezíduí v mastných matriciach (oleje a pod.). Výťažnosť fluvalinátu a permethrinu nemohla byť vypočítaná kvôli interferencii látok zo sójového oleja, kým  $\lambda$ -cyhalothrin, esfenvalerat a tra-

lomethrin dávajú nízke výťažnosti. Metódou HPLC boli stanovené aj pyrethríny v extrakte pyrethra<sup>51</sup> a v biologickom materiáli, ktorým bola ľudská plazma<sup>52</sup>.

Podľa spôsobu separácie môžeme metódy HPLC rozdeliť do týchto skupín:

- achirálna separácia na reverzných fázach (RP),
- achirálna separácia na normálnych fázach (NP),
- chirálne separácie s využitím polárných mobilných fáz,
- chirálne separácie s využitím nepolárných a stredne polárných mobilných fáz.

Stručné charakteristiky týchto metód sú uvedené v tabuľke I a II.

### 2.1. Achirálna separácia na reverzných fázach

Táto metóda umožňuje stanoviť pyrethroidy a ich diastereoizoméry v rôznych matriciach, resp. ich čistotu v technologických vzorkách.

Niektoré syntetické pyrethroidy<sup>53</sup> a synergikum piperonyl butoxid, zlúčeniny ktoré sa bežne používajú ako ochrana pre skladované obilie, boli stanovené ako rezidua v ryži RP HPLC s UV detekciou pri 225 nm. Extrakcia pesticídov a interferujúceho materiálu z obilia bola robená tromi rôznymi extrahujúcimi rozpúšťadlami: acetónom, metanolom a hexánom. Acetón bol z nich najvhodnejší, pretože poskytuje kvantitatívnu extrakciu (48-hodinová extrakcia) a neposkytuje vysokú úroveň balastného materiálu. Koncentrácia pyrethroidov v extrakte dosahuje úroveň 5  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ , čo umožňuje ich stanovenie priamym dávkovaním. Pri nižších koncentráciách je potrebné dodatočné čistenie extraktu a zakoncentrovanie analytov. Dokonalé vyčistenie acetónových extraktov bolo uskutočnené na predkolónach plnených oxidom hlinitým, resp. kremičitanom horečnatým a desaťnásobné zakoncentrovanie bolo dosiahnuté sorpciou pesticídov na predkolóne C18 alebo zahustením extraktu prostredníctvom odparenia rozpúšťadla.

Na rozlíšenie prekrývajúcich sa chromatografických pík boli využité rôzne chemometrické metódy<sup>54,55</sup> ich dekonvolúciou a aplikované na stanovenie pyrethroidov – zmesi cypermethrinu, fenvalerate a *cis*-, *trans*-permethrinu HPLC.

Rezidua<sup>56</sup> fluvalinátu v mede boli analyzované po superkritickéj fluidnej extrakcii (SFE) oxidom uhličitým s následnou HPLC analýzou na kolóne C18. Táto metóda je podľa autorov jednoduchšia ako extrakcia organickými rozpúšťadlami, čistenie extraktov tenkovrstvovou chromatografiou a analýza plynovou chromatografiou.

Kutter a Class<sup>57</sup> pozorovali na kolóne C18 RP poradie elúcie izomérov *cis*- a *trans*-allethrinu v mobilnej fáze metanol:voda (4:1). V prípade cypermethrinu boli detegované len tri píky miesto štyroch pík diastereoizomérov.

Brouwer a spol.<sup>58</sup> stanovovali pyrethroidné insekticídy v povrchovej vode kvapalinovou chromatografiou so spektrofotometrickou detekciou detektorom s diódovým poľom (DAD) použitím priamej úpravy vzorky technikou prepájania kolón. Procedúra zahŕňa automatické on-line zakoncentrovanie na predkolónkach obsahujúcich oktadecylsilikagél. Adsorpcia na vnútorné steny a povrchy bola potlačená prídavkom neutrálneho surfaktantu Brij-35 do vodnej vzorky. Pri spracovaní 100 ml vzorky sú detekčné limity na úrovni 0,4  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  pri 235 nm.

Cyfluthrin<sup>59</sup> bol stanovený RP LC v kvapalných a pevných

Tabuľka I  
Achirálna HPLC analýza pyrethroidov

Stacionárna fáza	Mobilná fáza	Separované pyrethroidy	Detekcia a detekčný limit	Matrica a úprava vzorky	Lit.
<i>Achirálna separácia na reverzných fázach</i>					
Waters Novapak C18 (150×3,9 mm)	ACN-H <sub>2</sub> O (75:25)	bioresmethrin, deltamethrin, fenvalerat, permethrin, phenothrin	UV 225 nm 0,05 µg.ml <sup>-1</sup>	ryža, extrakcia	53
Hypersil C18 (150×4,6 mm, 5 µm)	ACN-H <sub>2</sub> O (85:15)	cypermethrin, fenvalerat, permethrin	UV 210 nm	podzemná voda, pôda, extrakcia	54
Hypersil C18 (150×4,6 mm, 5 µm)	ACN-H <sub>2</sub> O (95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 75:25)	cypermethrin, fenvalerat, permethrin	DAD	–	55
Novapak C18 (150×4,6 mm)	ACN-H <sub>2</sub> O s 14 ml.l <sup>-1</sup> 0,01M-AcOH (80:20)	fluvalinat	UV 254 nm 0,06 mg.l <sup>-1</sup>	med, SFE	56
LiChrosorb RP18 (120×4 mm, 5 µm)	CH <sub>3</sub> OH-H <sub>2</sub> O (4:1)	allethrin	UV 220 nm	–	57
Supelcosil LC-PAH (250×4,6 mm, 5 µg)	gradient A = H <sub>2</sub> O, B = ACN 35 % A-65 % B po čas 12,5 min., lineárna zmena na 20 % A-80 % B (20 min)	allethrin, cypermethrin, tetramethrin, permethrin, fenprothrin, fenvalerat, bifenthrin	UV 235 nm 0,4 µg.l <sup>-1</sup>	povrchová voda	58
Nucleosil C18 ((1250+40)×4 mm, 5 µm)	ACN-H <sub>2</sub> O (80:20)	deltamethrin	UV 275 nm 0,2 mg.l <sup>-1</sup>	voda z bazény, pre očistu hov. dobytka, filtrácia	62
Kyanopropyl modifikovaný silikagél (250×4,6 mm, 5 µm)	ACN-H <sub>2</sub> O (55:45)	cyfluthrin	UV 230 nm	kvapalné a pevné pesticídne formy	59
Nucleosil 120-5 C18 (250×4,6 mm)	ACN-H <sub>2</sub> O (80:20)	flumethrin, deltamethrin, cypermethrin, cyhalothrin	UV 266 nm 0,001 mg.kg <sup>-1</sup>	mlieko a krv dojnych kráv, extrakcia	60,61
µBondpak C18 (300×3,9 mm, 10 µm)	ACN-H <sub>2</sub> O (75:25)	bifenthrin, cypermethrin, fenprothrin, fenvalerat, flucytrin, methotrin, permethrin, tetramethrin py-115	UV 206 nm 0,05 mg.kg <sup>-1</sup> pre py-115 0,1 mg.kg <sup>-1</sup>	plodiny ovocia a zeleniny, extrakcia	63
Separon SIX C18 (150×3,2 mm, 5 µm)	CH <sub>3</sub> OH-H <sub>2</sub> O (80:20)	kadethrin, cypermethrin, permethrin	UV 272 nm 7,8–13,5 µg.ml <sup>-1</sup> (20 µl)	ovzdušie, extrakcia z PUF	64

Tabuľka I – pokračovanie

Stacionárna fáza	Mobilná fáza	Separované pyrethroidy	Detekcia a detekčný limit	Matrica a úprava vzorky	Lit.
Purospher RP-18e (125×4 mm, 5 µm)	rôzny gradient CH <sub>3</sub> OH-H <sub>2</sub> O	kadethrin, cypermethrin, permethrin	UV 270 nm	aerosólové spraye	
Separon SGX C18 (150×3 mm, 5 mm)	CH <sub>3</sub> OH-H <sub>2</sub> O (75:25)	kadethrin, cypermethrin, permethrin	UV 225 a 245 nm		65
Separon SIX CN (150×3 mm, 5 µm)	CH <sub>3</sub> OH-H <sub>2</sub> O (60:40)	kadethrin, cypermethrin, permethrin	UV 225 nm		65
Chromolith RP-18e Performance (100×4,6 mm)	gradient CH <sub>3</sub> OH-H <sub>2</sub> O	kadethrin, cypermethrin, permethrin	UV 220 nm		65
<i>Achirálna separácia na normálnych fázach</i>					
Partisil (250×4,6 mm; 10 µm)	hexán-chloroform-IPA (200:0,2:0,1) hexán-THF-dietyléter (200:0,5:6) hexán-chloroform-dietylér (200:1:6) hexán-chloroform-IPA (200:1:6)	cypermethrin cypermethrin cypermethrin, permethrin cypermethrin	UV 281 nm	–	67
LiChrospher Si 100 (120×4 mm, 5 µm)	3% THF-hexán	allethrin, cypermethrin	UV 220 nm	–	57
Nucleosil 5 NO <sub>2</sub> (120×4 mm, 5 µm)	0,5% THF-hexán	allethrin, cypermethrin	UV 220 nm	–	57
LiChrospher Si 60 (250×4 mm, 10 µm)	hexán-benzén (50:50)	deltamethrin, cypermethrin, permethrin	UV 280 nm, polarimeter	–	66
Spherisorb S5W (250×4,6 mm, 5 µm)	0,7% etylacetát-izooktán	α-cypermethrin, fenvalerat, deltamethrin, fenpropathrin, esfenvalerat, cypermethrin, permethrin	UV 275 nm	pesticídne formy, extrakcia	68
Partisil 10 Si (250×4,6 mm, 10 µm)	7% IPA-hexán	alphamethrin, cypermethrin, phenothrin, deltamethrin, fenpropathrin, tetramethrin, fenvalerat, permethrin	UV 235 nm 0,4–1,5 ppm	pitná voda	69
Separon SIX-CN (150×3,3 mm, 5 µm)	7% IPA-heptán	alphamethrin, cypermethrin, phenothrin, deltamethrin, fenpropathrin, tetramethrin, fenvalerat, permethrin	UV 235 nm 0,75–5 ppm	pitná voda	69
Silasorb 600 (5 µm)	0,4% THF-heptán hexán-acetón (30:1)	cypermethrin, deltamethrin, λ-cyhalothrin	UV 240 nm	–	70

Tabuľka II  
Chirálna HPLC analýza pyrethroidov

Stacionárna fáza	Mobilná fáza	Separované pyrethroidy	Detekcia a detekčný limit	Matrica a úprava vzorky	Lit.
	<i>Chirálna separácie s využitím polárnych mobilných fáz</i>				
ChiraDex (250×4 mm, 5 µm)	150 mM trietylamín s H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> v H <sub>2</sub> O (pH 3,5):CH <sub>3</sub> OH (45:55) 150 mM trietylamín s H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> v H <sub>2</sub> O (pH 3,5):ACN (60:40)	α-cypermethrin cypermethrin permethrin	UV 210 nm	–	39 71 39
Cyclobond I 2000 (250×4,6 mm, 5 µm)	150 mM trietylamín s H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> v H <sub>2</sub> O (pH 3,5):CH <sub>3</sub> OH (50:50)	α-cypermethrin, cypermethrin	UV 210 nm	–	71
(+)-(5R,8S,0R)1-(3-Aminopropyl)-terguride (150×4,6 mm)	20 mM octanový tlmivý roztok (pH 4)-ACN (6:4) 20 mM octanový tlmivý roztok (pH 4)-ACN (4:6) 20 mM octanový tlmivý roztok (pH 3,7)-ACN (7:3)	resmethrin, permethrin, cyfluthrin, bifenthrin, phenothrin deltamethrin cyfluthrin	UV 230 nm UV 230 nm UV 230 nm	– – póda, extrakcia	72 72 72
Cyclobond I β-Cyklodextrín (250×4,6 mm, 5 mm)	ACN-H <sub>2</sub> O (25:75) ACN-H <sub>2</sub> O (22:78)	cypermethrin allethrin	UV 220 nm	–	57
	<i>Chirálna separácie s využitím nepolárnych a stredne polárnych mobilných fáz</i>				
Pirklova iónová kolóna I-A (250×4,6 mm)	0,15% IPA-hexán 0,05% IPA-hexán	dl-allethrin, d-allethrin, α-cypermethrin, cypermethrin, fenprothrin, fenvalerat, tetramethrin permethrin, d-phenothrin, resmethrin	UV 230 nm	–	73
Pirklova kovalentná kolóna (250×4,6 mm)	0,15% IPA-hexán 0,05% IPA-hexán	λ-cyhalothrin, cyhalothrin, α-cypermethrin, fenvalerat cyfluthrin, flucythrinate, flumethrin	UV 230 nm	–	73
I <sup>3</sup> (250×4 mm)	hexán-1,2-dichlóretán-etanol (500:30:0,15)	terallethrin	UV 230 nm	–	74

Tabuľka II – pokračovanie

Stacionárna fáza	Mobilná fáza	Separované pyrethroidy	Detekcia a detekčný limit	Matrica a úprava vzorky	Lit.
II <sup>b</sup>	hexán-1,2-dichlóretán-etanol (500:30:0,15) hexán-1,2-dichlóretán-etanol (500:30:0,05) hexán-1,2-dichlóretán-etanol (500:10:0,05)	allethrin, bioallethrin fenvalerat cypermethrin, fenpropathrin			74
III <sup>c</sup>	hexán-1,2-dichlóretán-etanol (500:30:0,15) hexán-1,2-dichlóretán (500:1) resmethrin	fenvalerat, tetramethrin, permethrin, phenothrin,			74
OA-2000	hexán-1,2-dichlóretán-etanol (500:30:0,15)	fenvalerat			74
OA-4700	hexán-1,2-dichlóretán-etanol (500:10:0,05)	cypermethrin			74
II+OA-4700	hexán-1,2-dichlóretán-etanol (500:10:0,05)	cypermethrin			74
Daiçel Chiralcel OD (250x4,6 mm, 10 µm)	hexán-IPA (250:5)	cypermethrin, $\alpha$ -cypermethrin, permethrin	UV 280 nm	–	67
Chiraspher (250x4 mm, 5 µm)	hexán-etanol (99,5:0,5)	bifenthrin, fenpropathrin	UV 230 nm, polarimeter	–	76
Whelk-O (250x4,6 mm)	hexán 2% IPA-hexán 0,2% IPA-hexán	resmethrin tetramethrin permethrin	UV 254 nm	–	75
Chiral-2 (250x4 mm, 5 µm)	0,05% trifluoroctová kyselina a 0,05% IPA-hexán	cypermethrin	UV 220 nm	–	57
Whelk-01 (250x4mm, 5 µm)	1% IPA-heptán	cypermethrin, permethrin	UV 240 nm –	64	

<sup>a</sup> Typ I odvodený od derivátu (S)-1-( $\alpha$ -nafty)etylamínu s (S)-valínom chemicky viazaný na 3-aminopropyl silikagél, <sup>b</sup> typ II odvodený od derivátu (S)-1-( $\alpha$ -nafty)etylamínu s (S)-*terc.*leucínom chemicky viazaný na 3-aminopropyl silikagél, <sup>c</sup> typ III (R)-A-(3,5-dinitrobenzoyl)-1-naftyglycín iónovo viazaný na 3-aminopropyl silikagél

formách. Plochy píkov pre testovaciu vzorku a štandard cyfluthrinu boli porovnané použitím dekanofenónu ako vnútorného štandardu.

Na stanovenie rezíduí syntetických pyrethroidov v mlieku a krvi dojnych kráv bola vyvinutá citlivá metóda<sup>60,61</sup>. Extrakcia bola uskutočnená acetonitrilom, rozdeľovanie *n*-hexánom a silikagelová kolóna bola vyčistená *n*-hexánom a dietyléterom. Výťažnosť pyrethroidov bola 78–91 % s minimálne detegovateľnou koncentráciou 0,001 mg.kg<sup>-1</sup>.

Pavan a spol. v práci<sup>62</sup> navrhli postup, kde vzorka dezinfekčného roztoku z bazéna pre očistu hovädzieho dobytku bola odstreďovaním a filtráciou rozdelená na kvapalnú a pevnú podiel. Tieto podiely vzorky boli analyzované HPLC so spektrofotometrickým detektorom pri 275 nm, pričom detekčný limit bol 0,2 mg.l<sup>-1</sup>. Autori deklarujú celkovú výťažnosť 81,2–84,95 %, pričom 20 % deltamethrinu bolo distribuované do kvapalného podielu vzorky a v pevnom podiely vzorky sa nachádzalo zvyšných 61,2–64,95 %.

Rezíduá<sup>63</sup> deviatich pyrethroidov z ovocia a zeleniny boli extrahované metanolom, reextrahované toluénom a vyčistené na kolóne obsahujúcej zmes Florisilu a aktívneho uhlia. Výťažnosti celého postupu sa pohybovali pre jednotlivé pyrethroidy v rozmedzí 62,7–129,2 %.

V práci<sup>64</sup> bolo študované retenčné správanie sa zvolenej skupiny pyrethroidov RP HPLC. V mobilnej fáze metanol/voda (80:20) na oktadecylsilikagelovej kolóne sa dosiahla úplná skupinová separácia kadethrinu, cypermethrinu, ako aj čiastočná separácia diastereoizomérov cypermethrinu a úplná separácia diastereoizomérov permethrinu. Modelové zmesi a aplikačné formy (komerčné prípravky) pyrethroidov sa analyzovali v ovzduší, využitím sorpcie pyrethroidov na polyuretánovú penu (PUF) umiestnenú vo vzorkovači ovzdušia.

Problematika zlepšenia separácie diastereoizomérov pyrethroidov metódou RP HPLC bola riešená<sup>65</sup> na rôznych štyroch typoch kolón s a bez prídavku kovových kationov Zn<sup>2+</sup> a Ag<sup>+</sup>. Výrazné rozlíšenie diastereoizomérov bolo dosiahnuté na dvoch oktadecylových kolónach zapojených za sebou s mobilnou fázou metanol/voda s 21,2 mmol.l<sup>-1</sup> prídavkom kationov Ag<sup>+</sup>. Bol použitý aj nový druh chromatografickej kolóny (Chromolith RP-18e Performance). Na tejto kolóne rozlíšenie jednotlivých pyrethroidov ako aj ich diastereoizomérov dosahovalo hodnoty väčšie ako 1,3 v čase do desať minút. Jediným nedostatkom bola koelúcia dvoch diastereoizomérov cypermethrinu.

## 2.2. Achirálna separácia na normálnych fázach

Normálnefázový mód umožňuje separáciu diastereoizomérov alebo pyrethroidov, poprípade ich oddelenie od interferentov. Výhodou tohto módu je, že ide o adsorpčnú chromatografiu, kde tvarová selektivita je všeobecne lepšia ako v rozdeľovacej chromatografii.

Diaz a spol.<sup>66</sup> delili stereoizoméry deltamethrinu, cypermethrinu a permethrinu na kolóne Lichrospher Si 60 v mobilnej fáze hexán–benzén použitím dvoch detektorov: UV spektrofotometra a polarimetra s diódovým laserom. Využitím stereospecifického polarimetrického detektora boli schopní analyzovať jednotlivé enantioméry rozseparovaných diastereoizomérov pyrethroidov.

Relatívne rýchla (<30 minút), robustná a nie príliš drahá

metóda bola vyvinutá pre separáciu diastereoizomérov cypermethrinu<sup>67</sup>. Silikagelová kolóna Partisil a mobilná fáza hexán–chloroform–dietyléter (200:1:6) boli použité pre analýzu a prípravu každého diastereoizoméru zberom frakcií. Táto metóda sa použila aj pri separácii geometrických izomérov permethrinu za elučný čas kratší ako desať minút. Pre cypermethrin dávajú štyri rôzne druhy mobilných fáz rôznu selektivitu separácie izomérov, ale nie je dostatočná pre zmenu elučného poradia. Tieto metódy poskytujú užitočné alternatívy, ak sa v extraktoch biologických materiálov nachádzajú koeluujujúce píky.

NP HPLC (cit.<sup>57</sup>) sa separoval cypermethrin a cyfluthrin (4-fluorobenzylový analóg cypermethrinu) na silikagéli a na silikagéli modifikovanom NO<sub>2</sub> na štyri páry enantiomérov. Elučné poradie allethrinu na silikagéli (3% tetrahydrofuran (THF) v hexáne) je také, že *cis*- eluuje pred *trans*-allethrinom a na silikagéli modifikovanom NO<sub>2</sub> (0,5% THF v hexáne) *cis*-allethrin izoméry eluuju pred *trans*-izomériami – predstavujúce bioallethrin. Sú separované v elučnom poradí [1*R*, *trans*,  $\alpha$ S]-allethrin pred [1*R*, *trans*,  $\alpha$ R]-allethrinom.

Metóda uvedená v práci Koppena<sup>68</sup> bola využitá pre sedem pyrethroidov prítomných ako jednoduché pyrethroidy aktívnych ingrediencií v jednej z troch foriem: emulzia, suspenzia alebo vo vode dispergovateľné granule. Predbežné experimenty poukázali na separácie  $\lambda$ -cyhalothrinu a štyroch diastereoizomérov cyfluthrinu pod 20 minút.

Rieger<sup>69</sup> vo svojej práci popísal separáciu a stanovenie niektorých pyrethroidov vo vode na silikagelovej kolóne a na kolóne s viazaným nitrilom použitím IPA v hexáne alebo heptáne ako mobilných fáz. Pre úplnú separáciu štyroch enantiomérnych párov cypermethrinu na kolóne s polárnou –CN viazanou fázou bola ako optimum vybraná mobilná fáza 0,4% THF v heptáne.

Zmes pyrethroidov sa v práci Davidyuka a spol.<sup>70</sup> mobilnou fázou *n*-hexán–acetón (40:1 a 6:1) na kolóne Silasorb 600 neseparovala. Tvar chromatografických píkov detegovaných pri 240 nm bol pri mobilných fázach *n*-hexán–acetón (10:1 a 20:1) skreslený, čo komplikuje kvantitatívne vyhodnotenie. Selektívna separácia bola dosiahnutá pri mobilnej fáze (30:1). Bolo zistené, že použitie mobilnej fázy je najlepšie pri teplote pod 20 °C. Pokles teploty pod 20 °C mal za následok zvýšenie retencie syntetických pyrethroidov.

## 2.3. Chirálna separácia s využitím polárnych mobilných fáz

Chirálna separácia sa využívajú na delenie racemických alebo enantiomérov obohatených zmesí na ich enantioméry.

Ševčík a spol.<sup>39</sup> separovali pyrethroidy s využitím cyklo-dextrínov ako chirálnych selektorov metódou HPLC a MECC. V porovnaní s HPLC, MECC umožňuje enantioseparáciu fenprothrinu a lepšiu separáciu cypermethrinu. Na druhej strane HPLC ponúka lepšie možnosti pri analýze permethrinu. Pri nižšej teplote sa lepšie separuje prvý enantiomérny pár permethrinu. Pri vyššej teplote táto separácia nie je vyhovujúca z pohľadu separácie všetkých enantiomérov, ale dáva dobré možnosti pre separáciu druhého enantiomérového páru.

V práci Lemra a spol.<sup>71</sup> bol študovaný vplyv rôznych experimentálnych parametrov (zloženie mobilnej fázy, prietok, teplota a dávkované množstvo) na chirálnu separáciu použitím dvoch stacionárnych fáz  $\beta$ -cyklodextrínov viazaných na silikagéli. Skonštatovalo sa, že každý parameter pri-

spieva k finálnemu výsledku. Pyrethroidy sú neutrálne látky, a toto je dôvod, prečo vplyv pH nie je očakávaný. Napriek tomu u  $\alpha$ -cypermethrinu zvýšenie pH viedlo k zníženiu relatívnej retencie pre jeho enantioméry z 1,53 na 1,43 na kolóne ChiraDex. Kolóna Cyclobond I umožňuje delenie oboch enantiomérov, ale stanovenie jedného v nadbytku toho druhého nie je možné. Použitím kolóny Cyclobond I bolo rozlíšených viacero píkov v porovnaní s kolónou plnenou fázou ChiraDex.

Priame<sup>72</sup> enantioseparácie kyseliny chryzantémovej [2,2-dimetyl-3-(2-metylpropenyl)-cyklopropánkarboxylová kyselina] a jej halogén-substituovaných analógov boli systematicky študované HPLC použitím chirálnej stacionárnej fázy s naviazaným alkaloidom – derivátom terguridu v kombinácii s DAD a chiroptickým detektorom. Izoméry s konfiguráciou (1*R*) vždy eluujú pred izomérmi s konfiguráciou (1*S*). Selektivita separácie *cis*- a *trans*-izomérov bola silne ovplyvnená pH mobilnej fázy, kým enantioselektivita zostala bez zmeny. Táto metóda bola použitá pre monitorovanie hydrolytických degradačných produktov cyfluthrinu v pôde pri laboratórnych podmienkach.

Všetky štyri<sup>57</sup> *trans*-izoméry allethrinu boli separované na chirálnej kolóne Cyclobond I. *Cis*-izoméry koeluovali v jednom píku. Na cykloextrínovej chirálnej kolóne Cyclobond I bolo pozorovaných päť pík, ak boli dávkované roztoky cypermethrinu v metanole alebo acetonitrile.

#### 2.4. Chirálna separácia s využitím nepolárnych a stredne polárnych mobilných fáz

Normálnefázový mód sa pre chirálne separácie používa častejšie pre lepšiu enantioselektivitu pre jednotlivé enantioméry. Je výhodný pre prípravu čistých enantiomérov.

Použitím Pirklových kolón iónového typu 1-A ((*R*)-*N*-(3,5-dinitrobenzoyl)fenylglycínová chirálna stacionárna fáza viazaná iónovou väzbou na aminopropylsilikagél) a novšieho kovalentne viazaného typu ((*R*)-*N*-(3,5-dinitrobenzoyl)fenylglycínová chirálna stacionárna fáza viazaná kovalentnou väzbou na aminopropylsilikagél ako amid) bolo skúmaných päťnásť syntetických pyrethroidov. Úplné rozdelenie pík enantiomérov bolo dosiahnuté takmer vo všetkých prípadoch<sup>73</sup>.

Vyvinuté boli tiež chirálne stacionárne fázy (CSP) klasifikované ako deriváty močoviny (typ I a II) (cit.<sup>74</sup>). Typ I je odvodený od derivátu (*S*)-1-( $\alpha$ -naftyl)etylaminu s (*S*)-valínom a typ II od derivátov (*S*)-1-( $\alpha$ -naftyl)etylaminu s (*S*)-*terc*.leucínom. V oboch typoch stacionárnych fáz sú funkčné skupiny chemicky viazané na 3-aminopropyl silikagél. Tieto typy CSP sú účinné pre separáciu racemických zlúčenín. Taktiež bol vyvinutý modifikovaný typ Pirklovej kolóny: (*R*)-*N*-(3,5-dinitrobenzoyl)-1-naftylglycín iónovo viazaný na 3-aminopropyl silikagél (III). Chirálna stacionárna fáza I–III sú účinné pre enantioméru separáciu insekticídov. Zlepšenie rozlíšenia bolo dosiahnuté pre rôzne substituované pyrethroidy obsahujúce jedno až tri chirálne centrá.

Enantioméry<sup>75</sup> niektorých agrochemikálií obsahujúcich  $\pi$ -aromatický systém s akceptorom vodíkovej väzby blízko stereogénneho centra boli separované na chirálnej stacionárnej fáze Whelk-O. Na tejto fáze boli delené *trans*-diastereoizoméry resmethrinu a tetramethrinu. Permethrin s dvoma chirálnymi centrami bol rozdelený na štyri enantioméry.

Sánchez<sup>76</sup> separoval enantioméry bifenthrinu a fenpropa-

thrinu na kolóne Chiraspher a analyty detegoval UV fotometrickým detektorom a polarimetrom s diódovým laserom. Rozlíšenie enantiomérov týchto dvoch pyrethroidov sa pohybovalo v rozmedzí 0,66–1,04 a najlepší polarimetrický signál bol získaný pri zmesi hexán–etanol (95,5:0,5).

Tri diastereoizoméry<sup>67</sup> cypermethrinu boli separované na základnú líniu na ich enantioméru páry s časom analýzy pod 50 minút. Jeden diastereoizomér nebol rozlíšený na enantioméry. Izoméry boli úplne separované pri mobilnej fáze hexán–2-propanol (IPA) (250:1), ale s podstatne dlhším elučným časom (cca 70 min). Táto metóda je vhodná pre prípravu enantiomérov cypermethrinu frakčným zberom. Použitá chirálna kolóna bola nevhodná pre analýzu štyroch enantiomérov permethrinu, ale výborná pre separáciu  $\alpha$ -cypermethrinu.

Diastereoizomérna<sup>56</sup> a enantioméru selektivita bola pozorovaná pre cypermethrin na chirálnej stacionárnej fáze Pirklovho typu, avšak pre allethrin separácia nebola pozorovaná. Dôvody sú veľmi silné interakcie so stacionárnou fázou, majúce za následok dlhé retenčné časy a ireverzibilnú adsorpciu.

Boli optimalizované podmienky<sup>63</sup> separácie cypermethrinu a permethrinu na chirálnej kolóne Whelk-01 (*R,R*) v 1% IPA v *n*-heptáne. Z výsledkov vyplynulo, že *trans*-diastereoizomér permethrinu bol rozseparovaný, kým *cis*- nebol. Cypermethrin bol rozseparovaný len na diastereoizoméry bez enantioseparácie.

### 3. Záver

Rozsiahle aplikácie insekticídnych pyrethroidov a ich štruktúrne črty si pri vývoji validovaných metód HPLC pre ich analýzu vyžadujú riešiť viacero okruhov problémov. Separácia diastereoizomérov pyrethroidov sa uskutočňuje metódami achirálnych HPLC v NP a RP systémoch, pričom za NP podmienok sú diastereoizoméry pyrethroidov ľahšie separovateľné<sup>77,78</sup>. Separácia enantiomérov sa robí v systémoch chirálnej chromatografie využívajúcich rôznorodé chirálne stacionárne fázy, pričom väčšina sa uskutočňuje v nepolárnych a stredne polárnych mobilných fázach.

Úspešnosť NP systémov vyplýva priamo zo štruktúrnych črt pyrethroidov, kde NP systémy HPLC sú využívané hlavne pre analýzu modelových zmesí pyrethroidov a analýzu pyrethroidov v technologických vzorkách a produktoch.

Naproti tomu pre analýzu pyrethroidov v komplexných reálnych vzorkách (potraviny, pôda, voda, ovzdušie) sa viac využíva RP systém, čo pravdepodobne súvisí s jeho väčšou robustnosťou a odolnosťou voči vzorkou zapríčineným zmenám systému. Schopnosť polárnych mobilných fáz rozrušovať interakcie pyrethroidov s matricovými zložkami hrá významnú úlohu nielen pri analýze diastereoizomérov, ale aj enantiomérov pyrethroidov. Najčastejšie používanou detekčnou technikou je spektrofotometria v UV oblasti (220–281 nm), prípadne sa využíva polarimetrický detektor. Pretože pyrethroidy v komerčných produktoch pozostávajú zo zmesi oboch optických (1*R*; 1*S* alebo +; –) a geometrických (*cis*-, *trans*-) izomérov, súčasný trend smeruje k potrebe enantioméru stanovení, a tým k zvýšenému počtu chirálnych separácií. Z uvedených článkov vyplýva, že väčšina separácií je zameraná na optimalizáciu separácie štandardných látok, len niekoľko prác sa zaoberá stanovením reziduí pyrethroidov, dôvo-

dom čoho môže byť značná obtiažnosť spracovania matric. Preto je táto problematika pre analytických chemikov neustále aktuálna.

#### Zoznam skratiek

ECD	detektor s elektrónovým záchytom
FID	plameňovoionizačný detektor
MECC	micelárna elektrokinetická chromatografia
CE	kapilárna elektroforéza
LIF	laserom indukovaná fluorescencia
RP	reverznéfázový
NP	normálnéfázový
DAD	detektor s diódovým poľom
SFE	superkritická fluidná extrakcia
IPA	2-propanol
ACN	acetonitril
THF	tetrahydrofurán

Táto práca vznikla za podpory VEGA projektu č. 1/6222/99 a grantu UK č. 66/2001/UK.

#### LITERATÚRA

1. Cremllyn R.: *Pesticidy*. SNTL, Praha 1985.
2. Pacák J.: *Úvod do studia organické chemie*. SNTL, Praha 1982.
3. Williams A.: *Agrochemical Chirality*. Agrow Reports DS70, str. 41. PJB Publications, Richmond 1992.
4. Matsumura F.: *6<sup>th</sup> IUPAC Congress of Pesticide Chemistry, Ottawa, 10–15 August 1986* (Greenhalgh R., Roberts T. R., ed.), str. 155. Blackwell Scientific Publications, Oxford 1987.
5. Buser H. P., Francotte E., v knihe: *Chiral Separations: Applications and Technology* (Ahuja S., ed.), str. 119. American Chemical Society, Washington, D.C. 1997.
6. Casida J. E., Ruzo L. O.: *Pestic. Sci.* **11**, 257 (1980).
7. Demoute J. P.: *Pestic. Sci.* **27**, 375 (1989).
8. Tvendten S.: *The Best Control*, 2. vyd. na CD ROM; [www.safe2use.com/pests/lice/poisons.htm](http://www.safe2use.com/pests/lice/poisons.htm); 10.2.2001.
9. Vijverberg H. P. M., Vandenbercken J.: *Crit. Rev. Toxicol.* **21**, 105 (1990).
10. Aldridge W. N.: *Crit. Rev. Toxicol.* **21**, 89 (1990).
11. Ray D. E., v knihe: *Handbook of Pesticide Toxicology* (Hayes W. J., Laws E. R., ed.), str. 585. Academic Press, San Diego 1991.
12. Ray D. E., Forshaw P. J.: *Clinical Toxicology* **38**, 95 (2000).
13. Papadopoulou-Mourkidou E.: *Anal. Methods Pestic. Plant Growth Regul.* **16**, 179 (1988).
14. Yoshioka H., Miyamoto J.: *Kagaku-to-Seibutu (Chemistry and Biology)* **14**, 427 (1976).
15. Miyamoto J., Yoshioka H.: *Kagaku-to-Seibutsu (Chemistry and Biology)* **14**, 549 (1976).
16. Dombek V.: *Chem. Listy* **82**, 1163 (1982).
17. Wan H. B., Wong M. K., Lim P. Y., Mok C. Y.: *J. Chromatogr., A* **662**, 147 (1994).
18. Navickiene S., Kato M. H., Polese L., Minelli E. V., Riberio M. L.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* **360**, 252 (1998).
19. Jin H., Webster G. R. B.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* **360**, 573 (1998).
20. Hadfield T., Sadler J. K., Bolygo E., Hill I. R.: *Pestic. Sci.* **34**, 207 (1992).
21. Nakamura Y., Tonogai Y., Tsumura Y., Ito Y.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **76**, 1348 (1993).
22. Woin P.: *Sci. Total. Environ.* **156**, 67 (1994).
23. Pang G. F., Fan C. L., Chao Y. Z., Zhao T. S.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **77**, 738 (1994).
24. Pang G. F., Chao Y. Z., Fan C. L., Zhang J. J., Li X. M.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **78**, 1481 (1995).
25. Class T. J., Kintrup J.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* **340**, 446 (1991).
26. Simonaitas R. A., Cail R. S.: *Chromatographia* **18**, 556 (1984).
27. Bland P. D.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **68**, 592 (1985).
28. Ogierman L., Sobocik A.: *Chem. Anal. (Warsaw)* **36**, 97 (1991).
29. Gutiérrez A. F., Vidal J. L. M., Liébanas F. J. A., Casado A. G., Vílchez J. L.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* **360**, 568 (1998).
30. Vílchez J. L., Espinosa P., Arrebola F. J., Casado A. G.: *Anal. Sci.* **13**, 817 (1997).
31. Cayley G. R., Simpson B. W.: *J. Chromatogr., A* **356**, 123 (1986).
32. Papadopoulou-Mourkidou E., Iwata Y., Gunter F.: *J. Agric. Food Chem.* **31**, 629 (1983).
33. Mao J., Erstfeld K. M., Fackler P. H.: *J. Agric. Food Chem.* **41**, 596 (1993).
34. Meinard C., Bruneau P., Roche M.: *J. Chromatogr., A* **349**, 105 (1985).
35. Meinard C., Bruneau P., Perronnet J.: *J. Chromatogr., A* **349**, 109 (1985).
36. Ashraf S., Bartle K. D., Clifford A. A., Davies I. L., Moulder R.: *Chromatographia* **30**, 618 (1990).
37. Nishikawa Y.: *Anal. Sci.* **7**, 637 (1991).
38. Nishikawa Y.: *Anal. Sci.* **8**, 817 (1992).
39. Ševčík J., Lemr K., Stránský Z., Večeřa T., Hlaváč J.: *Chirality* **9**, 162 (1997).
40. Corbini G., Biondi C., Proietti D., Dreassi E., Corti P.: *Analyst* **118**, 183 (1993).
41. Hernández P., Vicente J., Hernández L.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* **334**, 550 (1989).
42. Coomber D. C., Tucker D. J., Bond A. M.: *Anal. Chem.* **68**, 1267 (1996).
43. Raju R. V. P., Naidu R. R.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **77**, 748 (1994).
44. Karcher A., El Rassi Z.: *Electrophoresis* **18**, 1173 (1997).
45. Karcher A., El Rassi Z.: *Electrophoresis* **21**, 2043 (2000).
46. Dombek V.: *J. Chromatogr.* **545**, 427 (1991).
47. Coly A., Aaron J. J.: *Analyst* **119**, 1205 (1994).
48. Hill A. S., Mcdam D. P., Edward S. L., Skerritt J. H.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **41**, 2011 (1993).
49. Wengatz I., Stoutamire D. W., Gee S. J., Hammock B. D.: *J. Agric. Food Chem.* **46**, 2211 (1998).
50. Di Muccio A., Pelosi P., Barbini D. A.: *J. Chromatogr., A* **833**, 19 (1999).
51. Wang I.-H., Subramanian V., Moorman R., Burleson J., Ko J.: *J. Chromatogr., A* **766**, 277 (1997).
52. Wintersteiger R., Ofner B., Juan H., Windisch M.: *J. Chromatogr., A* **660**, 205 (1994).

53. Haddad P. R., Brayan J. G., Sharp G. J., Dilli S.: *J. Chromatogr.*, A 461, 337 (1989).
54. Frenich A. G., Galera M. M., Vidal J. L. M., García M. D. G.: *J. Chromatogr.*, A 727, 27 (1996).
55. Galera M. M., Vidal J. L. M., Frenich A. G., García M. D. G.: *J. Chromatogr.*, A 727, 39 (1996).
56. Atienza J., Jiménez J. J., Bernal J. L., Martín M. T.: *J. Chromatogr.*, A 655, 95 (1993).
57. Kutter J. P., Class T. J.: *Chromatographia* 33, 103 (1992).
58. Brouwer E. R., Struys E. A., Vreuls J. J., Brinkman U. A. T.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 350, 487 (1994).
59. Harbin D. N.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 78, 1335 (1995).
60. Bissacot D. Z., Vassilieff I.: *Vet. Human. Toxicol.* 39, 6 (1997).
61. Bissacot D. Z., Vassilieff I.: *J. Anal. Toxicol.* 21, 397 (1997).
62. Pavan F. A., Dallago R. M., Zanella R., Martins A. F.: *J. Agric. Food Chem.* 47, 174 (1999).
63. Pang G. F., Chao Y. Z., Liu X. S., Fan C. L.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 78, 1474 (1995).
64. Románová K.: *Diplomová práce*. PriF UK, Bratislava 2000.
65. Košická M.: *Diplomová práce*. PriF UK, Bratislava 2001.
66. Díaz A. N., Sánchez F. G., Pareja A. G.: *J. Chromatogr. Sci.* 36, 210 (1998).
67. Edwards D. P., Ford M. G.: *J. Chromatogr.*, A 777, 363 (1997).
68. Koppen B.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 77, 810 (1994).
69. Rieger S.: *Acta Univ. Palacki, Olomouc, Fac. Rerum Nat., Chem.* 29, 111 (1990).
70. Davidyuk E. I., Demchenko V. F., Klisenko M. A.: *J. Anal. Chem. (Moscow)* 52, 1058 (1997).
71. Lemr K., Ševčík J., Friedecký D., Jonaková A., Jirovský D.: *Acta Univ. Palacki, Olomouc, Fac. Rerum Nat., Chem.* 38, 41 (1999).
72. Dondi M., Flieger M., Olšovská J.: *J. Chromatogr.*, A 859, 133 (1999).
73. Lisseter S. G., Hambling S. G.: *J. Chromatogr.*, A 539, 207 (1991).
74. Oi N., Kitahara H., Kira R.: *J. Chromatogr.*, 515, 441 (1990).
75. Welch Ch. J., Szczerba T.: *Enantiomer* 3, 37 (1998).
76. Sánchez F. G., Díaz A. N., Pareja A. G.: *J. Chromatogr.* 754, 97 (1996).
77. Mourou D., Delépine B., Boisseau J., Gayot G.: *J. Chromatogr.*, A 168, 277 (1979).
78. Sapiets A., Swaine H., Tandy M. J., v kniže: *Analytical Methods for Pesticides and Plant Growth Regulators XIII.: Synthetic Pyrethroids and Other Pesticides* (Yweig G., Sherma J., ed.), str. 33. Academic Press, Orlando 1984.

**K. Románová and M. Hutta** (*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic*): **HPLC Analysis of Pyrethroids**

Applications of HPLC and determination of pyrethroids in different matrices (soil, water, air, fruits, vegetables and others) are reviewed. Their analysis still attracts attention due to their wide use as both household and industrial insecticides on one hand and controversial nature of their use on the other. From the analytical point of view, the problems lie in difficult separation of enantiomers and diastereoisomers because almost all pyrethroids are chiral compounds with 1–4 chirality centers.

*Zavedená farmaceutická firma hledá do výzkumného oddělení*

### **absolventy VŠ–specialisty**

na vývoj a validace analytických metod (HPLC, GC, titrace). Praxe v oboru a znalost AJ nutná.

Žádosti s profesním životopisem zašlete na  
Interpharma Praha, a.s., Komořanská 955, 143 10 Praha 12,  
fax 02/41 77 32 35, e-mail: [interpharma@interpharma-praha.cz](mailto:interpharma@interpharma-praha.cz),  
[www.interpharma-praha.com](http://www.interpharma-praha.com)

## LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

### CHEMILUMINISCENČNÍ PRŮTOKOVÉ STANOVENÍ DUSIČNANŮ VE VODĚ

PAVEL MIKUŠKA a ZBYNĚK VEČEŘA

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

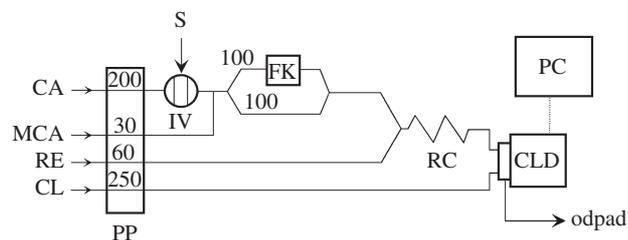
Došlo dne 26.IX.2001

Klíčová slova: dusičnan, fotolýza, FIA, chemiluminiscence, voda

#### Úvod

Dusičnany jsou důležitou součástí dusíkového cyklu ve spodních a povrchových vodách<sup>1</sup> a společně se sírany tvoří i dominantní anorganickou složku tzv. kyselých srážek<sup>2</sup>. Vzhledem k potenciálnímu škodlivému dopadu dusičnanů na lidské zdraví se stanovují zejména v pitné vodě a potravinách. U lidí je toxicita dusičnanů důsledkem redukce na dusitany *in vivo*; dusitany reakcí s hemoglobinem tvoří methemoglobin, jehož obsah v krvi je limitující pro schopnost krve transportovat kyslík<sup>3</sup>. Kromě toho mohou být v lidském těle dusitany konvertovány na karcinogenní nitrosaminy<sup>3,4</sup>.

V současné době se pro stanovení dusičnanů ve vodě používají spektrofotometrické<sup>5,6</sup>, elektrochemické<sup>7,8</sup>, separační<sup>9–11</sup> nebo průtokové metody<sup>12–19</sup>. Pro rutinní analýzy velkých sérií vzorků se používá nejčastěji tzv. průtoková injekční analýza (FIA), metoda, která je instrumentačně jednoduchá, značně flexibilní, vyznačuje se vysokou rychlostí, spolehlivostí a reprodukovatelností analýz<sup>20</sup>. Metody FIA používané pro stanovení dusičnanů jsou založeny převážně na konverzi



Obr. 1. Schéma FIA systému pro stanovení dusičnanů ve vodě: CA – nosná kapalina (deionizovaná voda), MCA – modifikátor nosné kapaliny (alkalický roztok siřičitanu), CL – chemiluminiscenční roztok (alkalický roztok luminolu), RE – roztok činidla (kyselý roztok H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), S – vzorek, IV – injekční ventil, RC – reakční smyčka, CLD – chemiluminiscenční detektor, FK – fotolytický konvertor; PC – počítač, PP – peristaltická pumpa; průtoky jednotlivých kapalin jsou uvedeny v µl.min<sup>-1</sup>

dusičnanu na dusitan, který se stanovuje spektrofotometricky jako produkt diazotačně-kopulační reakce<sup>13–17</sup>. Dusičnan lze redukovat na dusitan hydrazinem v přítomnosti měďnatých iontů<sup>19</sup>, většinou se však k redukci využívá poměděné kadmium<sup>13–18</sup>. V reduktoru s takto upraveným kadmíem lze dosáhnout téměř 100 % konverze dusičnanu na dusitan, avšak k dlouhodobému zajištění vysoké účinnosti reduktoru je nutné kadmium pravidelně promývat a kondicionovat. Problematická je i likvidace toxického odpadu. Výše zmíněné nevýhody byly řešeny fotolytickou konverzí dusičnanu na dusitan<sup>10,21–23</sup>. Omezením dosud popsaných fotokonvertorů je nízký stupeň konverze dusičnanu na dusitan ve vodě. Ke zvýšení účinnosti konverze je nutné používat speciální puфы a aktivátory.

V tomto příspěvku je popsáno průtokové stanovení dusičnanu ve vodě, které využívá fotolytickou konverzi dusičnanu na dusitan bez přítomnosti aktivátorů, přičemž vzniklý dusitan je stanoven chemiluminiscenčně<sup>24</sup>.

#### Experimentální část

##### Aparatura a postup

Schéma systému FIA je na obrázku 1. Reakční roztoky a nosná kapalina (deionizovaná voda) jsou transportovány peristaltickými pumpami. Vzorek je nasáván přes iontoměnič (katex) do šesticestného dávkovacího ventilu a je dávkováno 100 µl do proudu deionizované vody. Nosná kapalina s dávkovaným vzorkem je po smíchání s modifikátorem (alkalický roztok siřičitanu) rozdělena do dvou proudů. První proud prochází fotokonvertorem, kde je dusičnan redukován on-line na dusitan a druhý je veden krátkou kapilárou (by-pass) do T-kusu, v němž se oba proudy spojují. Výsledný roztok je smícháván s kyselým roztokem peroxidu vodíku, který oxiduje dusitan na kyselinu peroxodusitou. Uvnitř chemiluminiscenčního (CL) detektoru kyselina peroxodusitá reaguje s alkalickým roztokem luminolu a emitované chemiluminiscenční záření je detegováno fotonásobičem<sup>24</sup>. Při průchodu vzorku detektorem jsou registrovány dva píky, první odpovídá dusitanu původně přítomnému ve vzorku a druhý sumě původního dusitanu a dusitanu vzniklého redukcí dusičnanu. Koncentrace dusičnanu ve vzorku je vypočítána z rozdílu obou signálů.

##### Konvertor dusičnanu

Fotolytický konvertor dusičnanu obsahuje nízkotlakou rtuťovou lampu (3 W, 8 mm vnější průměr × 60 mm délka, typ NRV 2-I, Teslamp Praha), která ozařuje 4 kapiláry z křemenného skla umístěné symetricky kolem podélné osy lampy. Do série propojené kapiláry (tavený křemen po odstranění ochranné polyimidové vrstvy, vnitřní průměr 750 µm, délka jedné kapiláry 55 mm) jsou fixovány ve vzdálenosti 2 mm od křemenné baňky lampy. Účinnost konverze byla zvýšena použitím reflexních hliníkových fólií umístěných za křemennými kapilárami ve směru od zdroje UV záření.

## Referenční metoda

Jako referenční metoda při analýze dusičnanů v reálných vzorcích vod byla použita nízkotlaká kapalinová chromatografie. Dusičnany byly separovány od dusitanů na koloně s anexem (Dowex 2-X-8, 400 mesh, 1,6 mm × 13 mm), separované ionty byly stanoveny spektrofotometricky v UV oblasti při 210 nm. Jako eluent byl použit 0,08 M- $B_4O_7^{2-}$  (pH 7,1), průtoková rychlost eluentu byla 0,10 ml.min<sup>-1</sup>.

## Reagencie

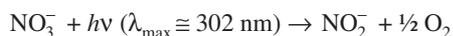
Roztoky byly připravovány z destilované-deionizované vody. Všechny chemikálie s výjimkou luminolu (čistý; Serva Heidelberg, Německo) byly analyticky čisté (Lachema, Brno).

Kolona s katexem (vrstva 1,6 mm × 1 mm) byla naplněna Dowexem<sup>R</sup> 50W-X<sub>2</sub> (200–400 mesh) v H<sup>+</sup> formě (Bio-Rad, Richmond, USA).

## Výsledky a diskuse

### Redukce dusičnanu

Fotoredukce dusičnanu indukovaná absorpcí UV záření umožňuje elegantní způsob konverze dusičnanu na dusitan<sup>25</sup>. Přestože je fotolýza dusičnanu poměrně komplikovaný proces zahrnující mnoho reakcí, výslednou reakci lze popsat jednoduchou stechiometrickou rovnicí<sup>26,27</sup>.



Při hledání optimálních podmínek pro UV redukci dusičnanu byla zpočátku používána teflonová kapilára (vnitřní průměr 0,75 mm, vnější průměr 1,10 mm, délka 18–50 cm) obtočená ve tvaru spirály kolem rtuťové lampy. Při použití deionizované vody jako nosné kapaliny nebyla pozorována žádná konverze dusičnanu. V přítomnosti fosfátového pufru (0,1 M, pH 6,8) bylo konvertováno 28 % dusičnanu na dusitan (PTFE hadička o délce 30 cm). Po přidavku aktivátoru (0,001 M-EDTA) do fosfátového pufru účinnost konverze dusičnanu (poměr signálů ekvimolárních koncentrací dusičnanu po průchodu přes UV konvertor a dusitanu bez průchodu přes UV) vzrostla na 52 %. Ačkoliv účinnost konverze dusičnan–dusitan je relativně vysoká, přítomnost aktivátoru a pufru není kompatibilní s použitým chemiluminiscenčním způsobem detekce dusitanu a omezuje detekční limit metody na 1.10<sup>-6</sup> M (3 S/N).

V další fázi byl pro fotoredukci dusičnanu vyvinut a studován systém obsahující křemenné kapiláry (popsané v experimentální části). Účinnost konverze dusičnanu na dusitan závisí především na intenzitě UV záření a době ozařování vzorku. Doba ozařování je funkcí průtokové rychlosti vzorku přes reduktor a použité křemenné kapiláry (délka, vnitřní průměr kapiláry, počet kapilár). Na obr. 2 je znázorněna konverze dusičnanu na dusitan v závislosti na počtu křemenných kapilár o vnitřním průměru 750 μm pro průtokovou rychlost vzorku přes fotoreduktor 60 a 100 μl.min<sup>-1</sup>. Pro další experimenty byly pro redukci dusičnanu zvoleny 4 kapiláry a průtoková rychlost vzorku přes reduktor 100 μl.min<sup>-1</sup>. Bylo

zjištěno, že konverze dusičnanu závisí významně také na pH roztoku. Při pH 7 (deionizovaná voda) je konvertováno pouze 10 % dusičnanu na dusitan, s rostoucím pH roztoku účinnost konverze roste a při pH 12,5 je konvertováno na dusitan 35 % dusičnanu. Předpokládá se, že tato poměrně nízká účinnost konverze dusičnanu na dusitan je způsobena zpětnou recombinační fotolýzou vzniklého dusitanu a rozpuštěného kyslíku pod UV lampou<sup>22</sup>. Přidávkem siřičitanu do nosné kapaliny, který reaguje s rozpuštěným kyslíkem, se zvýšil výtěžek konverze ve prospěch dusitanu. Optimální koncentrace siřičitanu je 0,002 mol.l<sup>-1</sup>, účinnost konverze dusičnanu na dusitan vzrostla na 63 %.

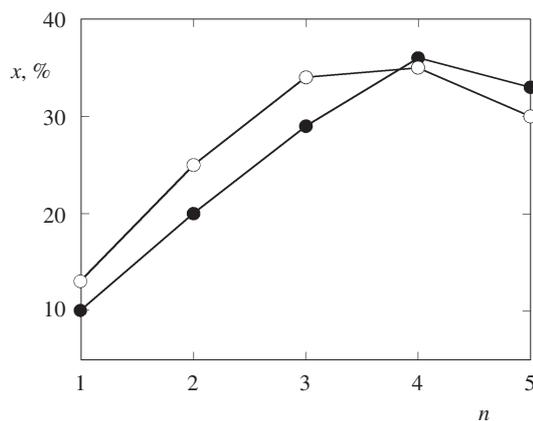
## Interference

Při stanovení dusitanu na základě chemiluminiscenční reakce peroxodusitanu s luminolem interferují různé kationty a anionty<sup>24</sup>. Interference kationtů je eliminována prosáváním vzorku přes kolonu s katexem umístěnou na vstupu vzorku do dávkovacího ventilu. Běžné anionty, jako jsou chloridy, hydrogenuhličitan, fosforečnan, sírany, hydrogensířičitan a bromidy v koncentraci 10<sup>-7</sup>–10<sup>-4</sup> M stanovení dusičnanu navrženým postupem neovlivňují. Pozitivní interferenci (20 %) vykazoval pouze chlornanový anion; to je důsledkem přímé reakce chlornanu s luminolem.

## Analytická charakterizace metody

Detekční limit stanovení dusičnanu je 2. 10<sup>-7</sup> M (0,013 mg.l<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) pro poměr signál/šum = 3. Citlivost metody tedy zcela vyhovuje pro stanovení dusičnanu v pitné vodě, ale i v dalších vzorcích povrchových vod (dle čs. normy je max. obsah dusičnanu v pitné vodě 50 mg NaNO<sub>3</sub>, tj. ≈ 5.10<sup>-4</sup> M). Kalibrační graf dusičnanu byl měřen v rozmezí 2.10<sup>-7</sup>–1.10<sup>-5</sup> M, graf je lineární v celém studovaném rozsahu.

Stupeň konverze dusičnanu (63 %) je konstantní v celém studovaném rozsahu. Relativní standardní odchylka (*n* = 10), počítaná z výšky píků, je 2,3 % pro 1.10<sup>-6</sup> M roztok dusičnanu a 1,6 % pro 5.10<sup>-6</sup> M-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Doba analýzy je 5 min.



Obr. 2. Závislost konverze dusičnanu *x* (%) na dusitan na počtu *n* křemenných kapilár a průtoku nosné kapaliny; 1.10<sup>-6</sup> M-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>; kapilára: vnitřní průměr 750 μm, délka 55 mm; průtok nosné kapaliny: ● 60 μl.min<sup>-1</sup>, ○ 100 μl.min<sup>-1</sup>

Tabulka I  
Analýza dusičnanů v různých vodách

Vzorek vody	Koncentrace dusičnanů [mg.l <sup>-1</sup> ] <sup>a</sup>	
	A	B
Pitná voda I	24,6	21,1
Pitná voda II	39,3	34,8
Studna I	105,8	107,2
Studna II	63,1	61,5
Minerální voda Mattoni	0,71	0,22
„Dobrá voda“	0,07	0,09
Stolní voda JASO	9,8	10,3
Dešťová voda	0,65	0,69
Spodní voda	95,2	91,5
Ríční voda (Svratka)	23,2	21,8

<sup>a</sup> A – navržená metoda, B – referenční metoda (LC)

### Analýza reálných vzorků

Navržená metoda byla použita při stanovení dusičnanů v různých vzorcích vod. Vzorky byly paralelně analyzovány i referenční chromatografickou metodou. Výsledky uvedené v tabulce I ilustrují dobrou shodu výsledků mezi navrženou a referenční metodou.

### Závěr

Je popsána jednoduchá a rychlá metoda FIA umožňující automatizované a citlivé stanovení dusičnanu v pitné, podzemní i povrchové vodě. Metoda je založena na kombinaci fotolytické on-line konverze dusičnanu v křemenné kapiláře a následného chemiluminiscenčního stanovení vzniklého dusitanu. Fotolytická konverze nabízí ekologický způsob stanovení dusičnanu ve srovnání s metodou založenou na redukci dusičnanu na koloně s poměděným kadmíem.

Detekční limit dusičnanu je  $2 \cdot 10^{-7}$  M, kalibrační křivka je lineární do  $1 \cdot 10^{-5}$  M. Účinnost konverze dusičnanu na dusitan je 63 %. Metodu lze použít pro současné stanovení dusičnanu a dusitanu ve vodě.

*Tato práce byla podporována Grantovou agenturou Akademie věd ČR v rámci projektu IAA4031105, grantem 203/98/0943 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

- Puckett L. J.: Environ. Sci. Technol. 29, 408A (1995).
- Radojević M.: Atmos. Environ. 20, 1309 (1986).
- Knotek Z., Schmidt P.: *Dusičnanová alimentární methemoglobinémie*. Státní zdravotnické nakladatelství, Praha 1965.

- Bruning-Fann C. S., Kaneene J. B.: Vet. Hum. Toxicol. 35, 521 (1993).
- Scheiner D.: Water Res. 8, 835 (1974).
- West P. W., Ramachandran T. P.: Anal. Chim. Acta 35, 317 (1966).
- Langmaier J.: Chem. Listy 84, 697 (1989).
- Nygaard D. D.: Anal. Chim. Acta 130, 391 (1981).
- Mou S., Wang H., Sun Q.: J. Chromatogr. 640, 161 (1993).
- Lookabaugh M., Krull I. S.: J. Chromatogr. 452, 295 (1988).
- Okemgbo A. A., Hill H. H., Siems W. F., Metcalf S. G.: Anal. Chem. 71, 2725 (1999).
- Elliot C. L., Snyder G. H., Cisar J. L.: Commun. Soil Sci. Plant Anal. 20, 1873 (1989).
- Anderson L.: Anal. Chim. Acta 110, 123 (1979).
- Oms M. T., Cerdà A., Cerdà V.: Anal. Chim. Acta 315, 321 (1995).
- Giné M. F., Bergamin H. F., Zagatto E. A. G., Reis B. F.: Anal. Chim. Acta 114, 191 (1980).
- van Staden J. F.: Anal. Chim. Acta 138, 403 (1982).
- Maimó J., Cladera A., Mas F., Forteza R., Estela J. M., Cerdà V.: Int. J. Environ. Anal. Chem. 35, 161 (1989).
- Pai S. C., Riley J. P.: Int. J. Environ. Anal. Chem. 57, 263 (1994).
- Kamphake L. J., Hannah S. A., Cohen J. M.: Water. Res. 1, 204 (1967).
- Růžička J., Hansen E. H.: Anal. Chim. Acta 114, 19 (1980).
- Takeda K., Fujiwara K.: Anal. Chim. Acta 276, 25 (1993).
- Motomizu S., Sanada M.: Anal. Chim. Acta 308, 406 (1995).
- Martínez Calatayud J. M., García Mateo J. V. G., David V.: Analyst 123, 429 (1998).
- Mikuška P., Zdráhal Z., Večeřa Z.: Anal. Chim. Acta 316, 261 (1995).
- Daniels M., Meyers R. V., Belardo E. V.: J. Phys. Chem. 72, 389 (1968).
- Mack J., Bolton J. R.: J. Photochem. Photobiol., A 128, 1 (1999).
- Mark G., Korth H. G., Schuchmann H. P., von Sonntag C.: J. Photochem. Photobiol., A 101, 89 (1996).

**P. Mikuška and Z. Večeřa** (*Institute of Analytical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Brno*):  
**Chemiluminescent Flow Determination of Nitrates in Water**

A fast and simple flow-injection method for sensitive automated determination of nitrates in various water samples is described. The method is based on the on-line photolytic conversion of nitrate in a quartz capillary to nitrite, which is determined by a chemiluminescent reaction. The photolytic conversion provides ecological detection of nitrate as compared with nitrate reduction at coppered cadmium.

The detection limit is  $2 \times 10^{-7}$  M nitrate, the calibration curve is linear to  $1 \times 10^{-5}$  mol.l<sup>-1</sup>. The efficiency of conversion of nitrate to nitrite is 63 %. The method is usable for the simultaneous determination of nitrate and nitrite in water.

## OPTIMALIZACE METODY HPLC PRO STANOVENÍ AMPROLIA V KRMIVĚCH PRO OBSAHY MENŠÍ NEŽ 5 mg.kg<sup>-1</sup> S POSTKOLONOVOU DERIVATIZACÍ

LÝDIE DUDÍKOVÁ<sup>a</sup>, DANUŠE NENÁHLOVÁ<sup>a</sup>,  
ALENA BREBURDOVÁ<sup>a</sup> a MICHAL DOUŠA<sup>b</sup>

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Brno, <sup>a</sup>Regionální laboratorní oddělení Praha, Za opravnou 4, 150 06 Praha, <sup>b</sup>Regionální laboratorní oddělení Plzeň, Slovanská alej 20, 317 60 Plzeň  
e-mail: lydie.dudikova@lo.zeus.cz, michal.dousa@lo.zeus.cz

Došlo dne 4.III.2002

Klíčová slova: HPLC, amprolium, krmivo, optimalizace metody

### Úvod

Amprolium (obr. 1, *I*), 1-[4-amino-2-propylpyrimidin-5-yl]-methyl]-2-methylpyridinium-chlorid, se používá jako účinné antikokcidikum ve výkrmu kuřat a krůtat a odchovu kuřic a bažantů řádově v obsazích 62,5–125 mg.kg<sup>-1</sup> finálního krmiva<sup>1</sup>; ochranná lhůta je 3 dny.

Stanovení amprolia v krmivech, které bylo také zapracováno do metod sdružení Association of Official Analytical Chemists (AOAC), bylo založeno na práci Szalkowského<sup>2,3</sup>. Kritické zhodnocení této práce v roce 1970 bylo publikováno Brügemannem<sup>4</sup>, který později použil k přečištění extraktu kolonové chromatografie na iontoměničích. Pozdější modifikace metody, která byla testována na krmných směsích, byla popsána Severjinenem<sup>5</sup>. Ze zkušebního vzorku krmiva se amprolium extrahuje směsí methanol/voda (2/1) a po úpravě pH hydroxidem sodným na hodnotu pH 8 je reextrahováno do dichlormethanu a následně je tento extrakt přečištěn na kyselém oxidu hlinitém. Amprolium se po reakci v alkalickém prostředí hydroxidu sodného s 2,7-dihydroxynaftalenem za přítomnosti kyanidu draselného a hexakynoželezitanu draselného stanoví spektrofotometricky při 530 nm. Směrodatná odchylka stanovení byla vypočtena na 4 % relat. a nebyly zjištěny žádné interference matrice. Výše popsaná metoda byla zapracována rovněž do metodik (AOAC) (cit.<sup>6</sup>). Nevýhodou metody je vysoká hodnota slepého pokusu a nízký rozsah linearit<sup>5</sup>. Výtěžnost metody je silně závislá na kyselosti použitého oxidu hlinitého<sup>7</sup>. Fluorometrická metoda stanovení

amprolia založená na vzniku amprochromu reakcí s hexakynoželezitanem draselným v přítomnosti hydroxidu sodného je rovněž oficiální metodou AOAC. Vzniklý fluoreskující derivát se extrahuje do butan-1-olu a měří se při 455 nm s excitační vlnovou délkou 400 nm (cit.<sup>8</sup>). Jsou-li přítomna antibiotika, dochází ke zkreslení výsledků. Polarografické stanovení amprolia v premixech popsali Stolejda a Růžička<sup>9</sup>. Amprolium je extrahováno ethanolem a po převedení do elektrolytu 0,1 M-HCl + 0,1 M-LiCl poskytuje katodickou vlnu v potenciálovém rozmezí od -0,8 V do -1,4 V (proti SKE). K vyhodnocení obsahu amprolia byla použita vzhledem k matici vzorku metoda standardního přířadku.

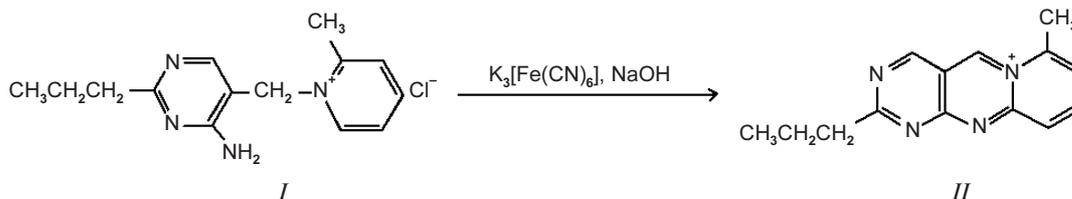
Ke stanovení amprolia v krmivech byly popsány metody HPLC, kdy k separaci amprolia byla použita iontová chromatografie<sup>10</sup> nebo separace na normální fázi silikagelu<sup>11</sup>. V roce 1988 byla publikována metoda, při níž bylo k separaci amprolia poprvé využito iontových párů (dioktyl-sulfosukcinát) na reverzní fázi C18 s UV detekcí při 270 nm (cit.<sup>12</sup>). Amprolium se extrahuje směsným rozpouštědlem methanol-voda (2/1) obsahujícím dioktyl-sulfosukcinát (5 mM) a chlorid vápenatý (10 mM). K přečištění extraktu se využívá tuhá fáze – kyselý oxid hlinitý. Výtěžnost metody byla vypočtena na 100,1 % a mezilaboratorní směrodatná odchylka stanovení vypočtená z mezilaboratorního porovnávacího testu je 3,2 %. Využití separace iontových párů s dioktyl-sulfosukcinátem bylo použito i v dalších metodách HPLC (cit.<sup>13,14</sup>). Ke stanovení nízkých obsahů amprolia a jeho reziduí byla využita reakce amprolia s hexakynoželezitanem draselným v přítomnosti hydroxidu sodného za vzniku fluoreskujícího derivátu – amprochromu (obr. 1, *II*). Reakce probíhá za kolonou, detekční limit je 3 μg.kg<sup>-1</sup> a metoda byla aplikována na stanovení amprolia ve vaječném žloutku<sup>15</sup>.

Na základě požadavků §7 zákona o krmivech<sup>16</sup> Ministerstvo zemědělství České republiky ukládá i u výrobků uváděných do oběhu monitorování výskytu nežádoucích doplňkových látek, mezi něž patří amprolium. V souladu s koncepcí pro monitorování nežádoucích doplňkových látek bylo proto nutno vyvinout rychlou a spolehlivou analytickou metodu, která by byla dostatečně selektivní pro koncentrační hladiny amprolia v μg.kg<sup>-1</sup>.

### Experimentální část

#### Přístroje a zařízení

Extrakce vzorků byla provedena na laboratorní třepače LT 2 (Laboratorní přístroje, Česká republika). Přečištění extraktu bylo provedeno na separační jednotce BAKER SPE 12G (J. T. Baker, USA) na kolonkách Sep-Pak Plus Cartridges Silica (Waters, Milford, USA). Zakoncentrování extraktu bylo



Obr. 1. Derivatizační reakce amprolia hexakynoželezitanem draselným v prostředí hydroxidu sodného

Tabulka I  
Podmínky HPLC

Parametr	Hodnota
Kolona	SymmetryShield RP <sub>8</sub> , 4 µm, 3,9×150 mm
Průtok mobilní fáze	0,8 ml.min <sup>-1</sup>
Mobilní fáze	složení je uvedeno v textu
Průtok derivatizačního činidla	0,6 ml.min <sup>-1</sup>
Objem derivatizační smyčky	1000 µl
Teplota derivatizační smyčky	45±1 °C
Teplota kolony	laboratorní
Objem nástřiku	10 µl
Detektor	fluorescenční excitační vlnová délka 365 nm, emisní vlnová délka 470 nm

Tabulka II  
Výtěžnost metody – výsledky měření a vypočtené statistické parametry pro vzorky krmných směsí

Parametr	Hodnota		
Očekávaná hodnota [mg.kg <sup>-1</sup> ]	0,545	2,145	5,095
Nalezená hodnota [mg.kg <sup>-1</sup> ]	0,570	2,163	5,132
Výtěžek metody [%]	104,6	100,8	100,7
Interval spolehlivosti	2,110	3,700	1,850
Relativní směrodatná odchylka [%]	0,30	0,46	0,44

provedeno na koncentrátoru vzorků Termovap (ECOM, Česká republika). Odstředění extraktu bylo provedeno na laboratorní odstředivce Hermle Z 230 MR (Hermle, Gosheim, SRN). Všechna měření byla provedena na kapalinovém chromatografu, který se skládá z vysokotlaké pumpy W515, autosampleru W717 Plus Autosampler a fluorimetrického detektoru W470 (vše Waters, Milford, USA) a datastanice PC Compaq. Derivatizační smyčka RXN 1000 Coil Kit (Waters, Milford, USA) byla umístěna do termostatu Column Temperature Control Systém (Waters, Milford, USA) a byla zařazena mezi chromatografickou kolonu a detektor pomocí směšovací komůrky Mixer Cartridge 50 µl (Supelco, USA). K derivatizaci byla použita vysokotlaká pumpa W515 (Waters, Milford, USA). K separaci byla použita chromatografická kolona SymmetryShield RP<sub>8</sub>, 4 µm, 3,9×150 mm (Waters, Milford, USA). pH roztoku bylo měřeno pH-metrem pH 526 (WTW, SRN) s kombinovanou skleněnou elektrodou a přístroj byl kalibrován na ftalátový pufr pH 4,01.

## Chemikálie

Acetonitril a kyselina octová byly čistoty HPLC grade (J. T. Baker, USA), sodná sůl kyseliny hexan-1-sulfonové čistoty 98 % (Sigma-Aldrich, USA), triethylamin p.a. (FLUKA, Švýcarsko), dichlormethan, methanol, hydroxid sodný a hexakynoželezitan draselný p.a. (Lachema Neratovice, Česká republika), kyselina fosforečná čistoty UltraPure (MERCK, SRN), demineralizovaná voda (Milli-Q systém, Millipore, Bedford, USA), základní roztok amprolia (Riedel-de-Haën, SRN).

Extrakční směs pro extrakci amprolia byla připravena smísením 100 ml methanolu a 900 ml dichlormethanu.

Mobilní fáze byla připravena smísením 80 ml acetonitrilu, 910 ml demineralizované vody, 5 ml kyseliny fosforečné a 5 ml triethylaminu. V mobilní fázi bylo rozpuštěno 1,42 g sodné soli kyseliny hexan-1-sulfonové (0,0075 mol.l<sup>-1</sup>) a její pH bylo upraveno roztokem triethylaminu na hodnotu 3,0.

Derivatizační roztok k postkolonové derivatizaci byl připraven rozpuštěním 37,5 g hydroxidu sodného ve 200 ml vody, po přidavku 15 ml 1% roztoku hexakynoželezitanu draselného ve vodě a vytemperování roztoku na laboratorní teplotu byl objem roztoku doplněn vodou na 250 ml.

Kalibrační roztoky o koncentraci 0,4; 0,8; 2,0 a 4,0 mg.l<sup>-1</sup> byly připraveny postupným ředěním základního roztoku amprolia v methanolu o koncentraci 200 mg.l<sup>-1</sup> mobilní fázi.

## Princip metody

Amprolium se extrahuje ze vzorku extrakčním činidlem methanol–dichlormethan (100/900) a takto získaný extrakt se přečistí extrakcí na pevné fázi silikagelu. Amprolium se stanoví metodou vysokoučinné kapalinové chromatografie na reverzní fázi C8 s iontovými páry s postkolonovou derivatizací hexakynoželezitanem draselným v alkalickém prostředí hydroxidu sodného s fluorescenční detekcí. Metoda je použitelná pro obsahy amprolia od 0,1 mg.kg<sup>-1</sup>.

## Standardní operační postup

Vzorek se upraví homogenizací a mletím na částice o velikosti 0,5 mm tak, aby se zabránilo přehřátí vzorku. 45 g zkušebního vzorku se extrahuje 150 ml extrakční směsí 30 minut v kónické baňce objemu 500 ml na laboratorní třepačce a pak 2 minuty na ultrazvukové lázni; takto získaný extrakt se přečistí na pevné fázi silikagelu.

## Přečištění extrakcí na pevné fázi

Na kolonku Sep-Pak Plus Silica kondicionovanou 5 ml extrakčního činidla se odměří 10,0 ml přefiltrovaného extraktu. Extrakt se nechá vsáknout tak, aby nedošlo k vyschnutí kolonky, poté se promyje 10 ml promývacího činidla. Kolonka se nechá 25 minut prosávat vzduchem do odstranění zbytků extrakčního roztoku. Amprolium se eluuje do odměrné baňky

objemu 2 ml mobilní fáze po značku. Takto připravený extrakt se odstředí 5 minut při  $10\,000\text{ ot.min}^{-1}$  a dává se na chromatografickou kolonu. Podmínky pro HPLC jsou uvedeny v tabulce I.

## Výsledky a diskuse

### Správnost a přesnost

Vzhledem k tomu, že certifikované referenční materiály nejsou dostupné, byla správnost metody (těsnost shody získané hodnoty s hodnotou skutečnou) ověřena analýzou modelových vzorků. Byly připraveny modelové vzorky krmiva (45 % pšenice, 25 % ječmen, 12 % sojový extrahovaný šrot, 8 % masokostní moučka, 5 % úsušky pšicín a 5 % vápenec) s přidávkou amprolia o koncentrační hladině 0,5; 2,0 a 5,0  $\text{mg.kg}^{-1}$ . Pro každou koncentrační hladinu byl vzorek analyzován 5x. Výsledky a vypočtené statistické parametry (hladina významnosti  $P = 0,95$ ) jsou uvedeny v tabulce II. Celková výtěžnost metody pro koncentrační hladiny 0,5 až 5,0  $\text{mg.kg}^{-1}$  je  $(102,0 \pm 5,5)\%$ . Nalezené hodnoty modelového vzorku byly srovnány s očekávanými hodnotami pomocí lineární regrese. Očekávané hodnoty byly považovány za nezávisle proměnné, nalezené hodnoty za závisle proměnné. Konstanta  $a$  regresního vztahu (konstantní soustavná odchylka) má hodnotu  $0,0186 \pm 0,0088$  a statisticky se neliší od nuly. Konstanta  $b$  regresního vztahu (proporcionální soustavná odchylka) má hodnotu  $1,0031 \pm 0,0028$  a neliší se statisticky od jedničky. Metoda poskytuje správné výsledky.

Přesnost metody (míra těsnosti shody mezi vzájemně nezávislými výsledky zkoušek za předem specifikovaných podmínek) byla pouze omezena na výpočet opakovatelnosti, která byla vypočtena ze směrodatné odchylky rozpětí obou paralelních stanovení reálných vzorků, jejichž celkový počet byl 15. Po vyloučení odlehlých výsledků (Cochranův test) má pro obsahy amprolia od 0,1 do 5,0  $\text{mg.kg}^{-1}$  opakovatelnost hodnotu 0,10  $\text{mg.kg}^{-1}$ .

Reprodukovatelnost metody nebylo možné stanovit bez provedení mezilaboratorních porovnávacích testů.

Při prekoncentraci amprolia na silikagelu byla sledována vhodnost použitého promývacího činidla (eluze interferentů), spotřeba desorpčního činidla a výtěžek extrakce na pevné fázi. K eluci interferentů bylo zvoleno extrakční činidlo. Polarita extrakčního činidla je dostatečná k odstranění interferentů a ani při objemu 15 ml činidla nedochází k desorpci amprolia. Spotřeba desorpčního činidla (mobilní fáze) je patrná z elučního profilu amprolia z pevné fáze (obr. 2). Měřením bylo zjištěno, že k desorpci amprolia postačují 2 ml desorpčního činidla. Vliv matrice a obsahu tuku na desorpci amprolia nebyl dále studován.

### Optimalizace mobilní fáze

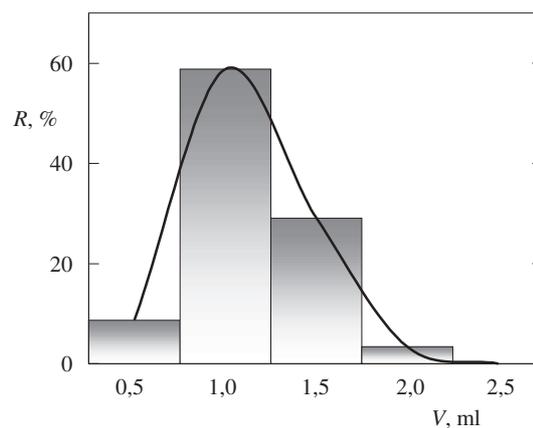
Mobilní fáze byla optimalizována tak, aby retenční faktor byl  $k \geq 2,5$ , počet teoretických pater  $N \geq 5\,000$  a asymetrický faktor  $t_a \leq 1,3$  (obr. 3). Mrtvý retenční objem byl určen jako retenční objem acetonu po odečtení mimokolonových objemových příspěvků. Ve zkoumaných mobilních fázích byl sledován vliv koncentrace acetonitrilu, koncentrace iontového páru (protiiontu) a pH mobilní fáze na retenční faktor.

Vliv koncentrace organického rozpouštědla  $\phi$  (vyjádřený jako molární zlomek) v mobilní fázi na retenční faktor chromatografované látky  $k$  byl popsán rovnicí<sup>17</sup>:

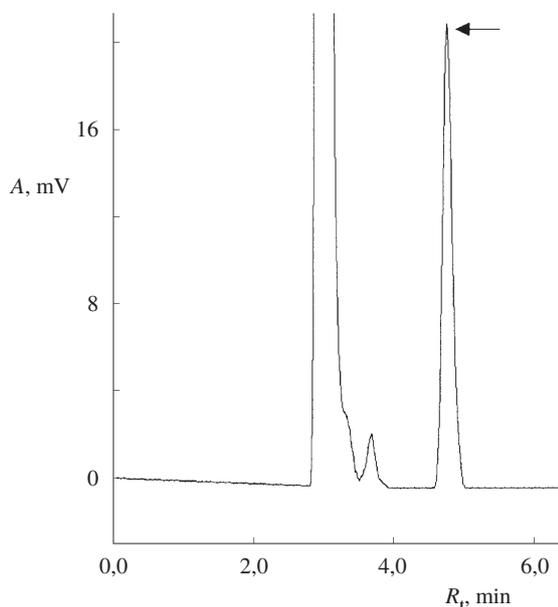
$$k = k_a 10^{-m\phi}$$

kde  $k_a$  je retenční faktor v čisté vodě jako eluentu získaný extrapolací experimentálních údajů a  $m$  je parametr přímo závislý na síle organického rozpouštědla a povaze rozpouštěné látky. V logaritmické formě přejde rovnice na tvar

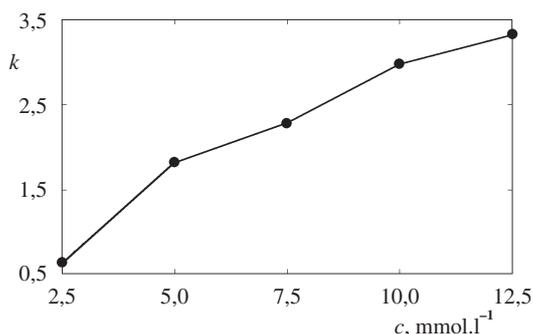
$$\log k = \log k_a - m\phi$$



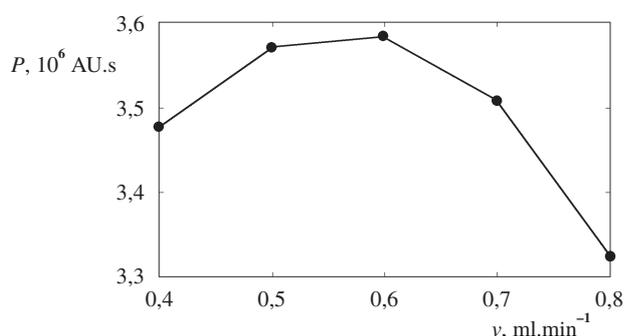
Obr. 2. Eluční profil amprolia na pevné fázi Sep-Pak Silica (výtěžnost  $R$ , objem desorpčního činidla  $V$ )



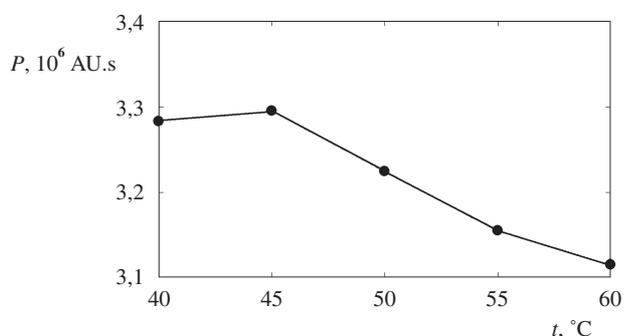
Obr. 3. Separace amprolia na chromatografické koloně SymmetryShield RP<sub>8</sub> ( $4\ \mu\text{m}$ ,  $3,9 \times 150\ \text{mm}$ ) s postkolonovou derivatizací hexakynoželezitanem draselným v prostředí hydroxidu sodného. Podmínky HPLC jsou uvedeny v tabulce I. Vypočtené eluční charakteristiky: retenční faktor  $k = 2,58$ , asymetrický faktor  $t_a = 1,22$ , počet teoretických pater  $N = 6\,900$



Obr. 4. Vliv koncentrace ( $c$ ) protiiontu sodné soli hexan-1-sulfonové kyseliny v mobilní fázi na retenční faktor ( $k$ ) amprolia



Obr. 5. Vliv průtoku ( $v$ ) derivatizačního činidla na odezvu detektoru vyjádřenou jako plocha ( $P$ ) píku amprolia



Obr. 6. Vliv teploty ( $t$ ) derivatizační smyčky na odezvu detektoru vyjádřenou jako plocha ( $P$ ) píku amprolia

a logaritmy retenčních faktorů se zvyšují s klesající koncentrací organického rozpouštědla v mobilní fázi. Experimentálně byla zjištěna lineární závislost mezi koncentrací acetonitrilu (v koncentračním rozmezí  $\varphi = 0,06$  až  $0,1$ ) a logaritmem retenčního faktoru, a rovnice pro mobilní fázi má potom tvar

$$\log k = 0,7736 - 7,1710 \varphi$$

Korelační koeficient  $r = -0,9955$ .

Vliv koncentrace protiiontu na retenční faktor byl sledován pro koncentrace 2,5; 5,0; 7,5; 10 a 12,5 mmol.l<sup>-1</sup> sod-

né soli kyseliny hexan-1-sulfonové v mobilní fázi. Podle předpokladu retence amprolia roste s koncentrací protiiontu (obr. 4). Jako optimální byla zvolena koncentrace protiiontu 7,5 mmol.l<sup>-1</sup>.

Při sledování vlivu pH mobilní fáze na retenční faktor amprolia bylo pH mobilní fáze upraveno vždy triethylaminem nebo kyselinou fosforečnou na požadovanou hodnotu. pH mobilní fáze v oblasti 2,5–3,5 nemá vliv na retenci amprolia, pouze dochází ke změně asymetrického faktoru, až ke štěpení píku amprolia.

Teplota separace nebyla optimalizována.

#### Linearity

Neznámé koncentrace byly vyhodnocovány z kalibrační přímky. Při výpočtu hodnot regresních koeficientů  $a$ ,  $b$  se vycházelo z platnosti modelu regresní závislosti, který předpokládá konstantní rozptyl pro všechny hodnoty závisle proměnné, použitím metody nejmenších čtverců. Rovnice kalibrační přímky má tvar:

$$A = (20\,017 \pm 22\,093) + (2\,124\,383 \pm 10\,257) c$$

kde  $A$  je plocha píku,  $c$  je koncentrace (mg.l<sup>-1</sup>), korelační koeficient  $r = 0,99999$ . Kalibrační přímka je lineární v rozsahu 4,0–40,0  $\mu\text{g}$ .

#### Mez detekce a mez stanovitelnosti

Mez detekce a mez stanovitelnosti byly vypočteny z kalibračního modelu. Mez detekce odpovídá hodnotě koncentrace, pro kterou je dolní mez  $(1-\alpha)$ -procentního intervalu spolehlivosti predikce signálu z kalibračního modelu rovna kritické úrovni a mez stanovitelnosti je nejmenší hodnota signálu, pro kterou je relativní směrodatná odchylka predikce z kalibračního modelu dostatečně malá a obvykle se pokládá rovná hodnotě 0,1 (cit.<sup>18</sup>). Byly vypočteny následující hodnoty: mez detekce 0,045 mg.l<sup>-1</sup>, tj. pro daný standardní operační postup 0,030 mg.kg<sup>-1</sup>, a mez stanovitelnosti 0,086 mg.l<sup>-1</sup>, tj. pro daný standardní operační postup 0,060 mg.kg<sup>-1</sup>.

#### Optimalizace derivatizační reakce

Byl sledován vliv průtoku derivatizačního činidla a teploty na odezvu detektoru. Při průtoku mobilní fáze 0,8 ml.min<sup>-1</sup> je optimální průtok derivatizačního činidla 0,6 ml.min<sup>-1</sup> (obr. 5). Optimální teplota derivatizační smyčky je 45 °C, se zvyšující se teplotou odezva detektoru klesá (obr. 6). Vliv koncentrace hexakvanoželezitanu draselného a hydroxidu sodného nebyl studován.

#### Závěr

Metoda HPLC stanovení amprolia v krmivech poskytuje správné a přesné výsledky. Byla stanovena hodnota opakovatelnosti a výtěžnost metody pro koncentrační hladinu amprolia 0,1 až 5 mg.kg<sup>-1</sup>. Metoda je rychlá a celková doba analýzy je asi 90 minut. Pro aplikaci metody v oblasti krmiv byla provedena optimalizace prekoncentrace a preseparace na pevné fázi Silica, a to z důvodu odstranění příslušných interferentů mat-

rice. Vzhledem k použití postkolonové derivatizace a fluorescenční detekce je metoda velmi selektivní.

## LITERATURA

1. Vyhláška č. 194/1996 Sb. Ministerstva zemědělství, kterou se provádí zákon o krmivech, ve znění pozdějších předpisů.
2. Szalkowski C. R.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. 48, 285 (1965).
3. Szalkowski C. R., Schultze E. P.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. 44, 5 (1961).
4. Brügemann J., Schole J.: Landwirtsch. Forsch. 23, 67 (1970).
5. Severjinen M., Buyzen-Satijn A. M.: Analyst 100, 328 (1975).
6. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (Cunniff P., ed.), 16. vyd., kap. 5, str. 3. AOAC, Arlington 1995.
7. Davis E. J.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. 51, 129 (1968).
8. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (Cunniff P., ed.), 16. vyd., kap. 5, str. 4. AOAC, Arlington 1995.
9. Stolejda J., Růžička B.: Biologiz. Chemiz. Vyz. Zvir. 4, 353 (1968).
10. Cox G. B., Lascombe C. R., Slucutt M. J., Sugden K., Upfield J. A.: J. Chromatogr. 117, 269 (1976).
11. Cox G. B., Sugden K.: Analyst 101, 738 (1976).
12. Kentzer E. J., Cottingham L. S., Smallidge R. L.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. 71, 215 (1988).
13. Nagata T., Saeki M.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. 69, 941 (1986).
14. Wehling R. L., Wetzel D. L.: J. Agric. Food Chem. 32, 1326 (1984).
15. Leeuwen W., Gend van H. W.: Z. Lebensm.-Unters. Forsch. 186, 500 (1988).
16. Zákon č. 91/1996 Sb., o krmivech, ve znění pozdějších předpisů.
17. Berendsen G. E., Galan L.: J. Chromatogr. 196, 21 (1980).
18. Meloun M., Militký J.: *Statistické zpracování experimentálních dat na osobním počítači*. FINISH, Pardubice 1992.

**L. Dudíková<sup>a</sup>, D. Nenáhlová<sup>a</sup>, A. Breburdová<sup>a</sup>, and M. Douša<sup>b</sup>** (Central Institute for Supervising and Testing in Agriculture, <sup>a</sup>Prague and <sup>b</sup>Plzeň): **Optimization of the HPLC Method with Postcolumn Derivatization for Determination of Amprolium in Fodders at Contents Lower than 5 mg.kg<sup>-1</sup>**

An HPLC method was developed and validated for rapid determination of amprolium as an undesirable additive to final fodders. Amprolium is extracted from a sample with a mixture of methanol and dichloromethane and, after purification of the extract on a silica gel column, determined by ion-pair reverse-phase chromatography on C8 with fluorescent detection after postcolumn derivatization with potassium hexacyanoferrate (III) in alkaline medium. The separation of amprolium on the C8 reverse phase and its postcolumn derivatization were optimized. The limit of determination was 86 µg.kg<sup>-1</sup>, the repeatability 0.1 mg.kg<sup>-1</sup> and the yield of the method was 102±5.5 % at amprolium concentrations 0.5–5 mg.kg<sup>-1</sup>. The repeatability was determined on real samples of final fodders.

### Zavedená farmaceutická firma

([www.interpharma-praha.com](http://www.interpharma-praha.com))

zabývající se výrobou API a vývojem vlastních produktů hledá do oddělení jistění jakosti (QA)

### absolventy VŠ (SŠ)

na pozici inspektora QA a registračního pracovníka. Zkušenosti s kontrolou výrobní dokumentace, znalost tvorby DMF předností. Angličtina nezbytná, praxe v oboru vítána. Nástup možný ihned.

Žádosti s profesním životopisem zašlete na adresu:

Interpharma Praha, a.s., Komořanská 955, 143 10 Praha 12, fax 02/41 77 32 35, e-mail: [interpharma@interpharma-praha.cz](mailto:interpharma@interpharma-praha.cz)

## VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ Cu, Pb, Cd, Zn a Tl POMOCÍ STŘÍBRNÉ PEVNÉ AMALGAMOVÉ ELEKTRODY\*

BOGDAN YOSYPCHUK a LADISLAV NOVOTNÝ

Ústav fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského, Akademie věd České republiky, Dolejškova 3, 182 23 Praha 8  
e-mail: josypcuk@jh-inst.cas.cz

Došlo dne 10.I.2002

Klíčová slova: stříbrná pevná amalgamová elektroda, voltametrie, těžké kovy, Cu, Pb, Cd, Zn, Tl

### Úvod

Stanovení kovových iontů je nezbytnou součástí monitorování životního prostředí<sup>1-4</sup>, sledování výskytu škodlivých látek a biogenních prvků v tělních tekutinách<sup>5</sup>, kontroly technologických procesů (například složení lázní pro elektrochemické pokovování) atd. Ve voltametii se pro tyto účely nejčastěji používá stacionární rtuťová kapková elektroda (HMDE) (cit.<sup>6,7</sup>), elektrody z ušlechtilých kovů<sup>6,8,9</sup>, podle potřeby modifikované rtuťovým filmem<sup>10-12</sup>, rtuťovým meniskem<sup>11</sup>, biologicky aktivními látkami<sup>13</sup>, a dále kompozitní elektrody<sup>14,15</sup> a elektrody z různých druhů uhlíku<sup>16,17</sup> včetně uhlíkových pastových elektrod<sup>18</sup>. Využití různých elektrod je popsáno v přehledném článku<sup>19</sup>. Výsledkem odborně nezdůvodněné kampaně o vysoké toxicitě kovové rtuti je zmenšení rozsahu využívání HMDE v analytických laboratořích, ačkoliv se neruťové elektrody (vykazující podstatně menší přepětí vodíku a vyžadující mechanickou regeneraci svého povrchu) uplatňují pro stanovení kovových iontů daleko obtížněji, zvláště pokud jde o kovy vysoce elektronegativní. Jako alternativa HMDE, zejména při měření v terénu a v podmínkách, kde je použití kovové rtuti nemožné či nežádoucí, byly navrženy elektrody tužkového typu na základě netoxických pevných amalgámů různých kovů (MeSAE – metal solid amalgam electrode) (cit.<sup>20-23</sup>).

V přehledném článku<sup>24</sup> jsou stručně popsány vyzkoušené možnosti použití MeSAE pro studium a sledování různých anorganických a organických látek. Nejvýznamnějšími přednostmi MeSAE (AgSAE, AuSAE, CuSAE aj.), zvláště pokud jsou modifikovány rtuťovým meniskem nebo rtuťovým filmem, jsou jak široký rozsah pracovních potenciálů<sup>24</sup> často srovnatelný s HMDE, tak výhradně elektrochemickou cestou prováděná regenerace povrchu, která je součástí měřicího programu, zajišťujícího tuto regeneraci automaticky. Pro analytické stanovení kovových iontů se dosud nejlépe osvědčila stříbrná pevná amalgamová elektroda modifikovaná rtuťovým meniskem (m-AgSAE). Tato elektroda se svým chováním (nedochází-li ke specifické interakci mezi stříbrem z elektrody a složkami roztoku) podobá HMDE; potenciály píků a proudy pozadí jsou na obou elektrodách téměř totožné. Tato skuteč-

nost dovoluje aplikovat analytické metodiky a postupy vypracované pro HMDE rovněž v případech m-AgSAE.

Elektrody z pevných amalgámů stříbra (stejně jako AuSAE, CuSAE aj.) považujeme za zcela netoxické, ve skutečnosti představují čistší obdobu zubních amalgámů. Při modifikaci jejich povrchu rtuť je přítomné množství kovové rtuti velmi malé; náhodně je odstranit je obtížné, a navíc se rtuť vlivem podložky s časem mění v netoxický pevný amalgám.

Cílem tohoto sdělení je informace o využití m-AgSAE v analýze vybraných kovových kationtů.

### Experimentální část

#### Reagencie

Pro přípravu roztoků byla použita voda redestilovaná v křemenné aparatuře. Všechny použité chemikálie byly čistoty p.a. (Lachema, Brno).

#### Aparatura

Voltametrická měření byla prováděna s využitím počítačového Eco-Tribo Polarografu PC-ETP (Polaro-Sensors, Praha) v režimu diferenční pulzní voltametrie (DPV) při výšce pulzu 50 mV, šířce pulzu 100 ms a rychlosti scanu 20 mV.s<sup>-1</sup>. Vlastní pracovní elektrodou byla rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgamová elektroda o průměru disku 0,54 mm, popř. obnovovaná stacionární rtuťová minielektroda tužkového typu UMμE (cit.<sup>25</sup>), obě dodávané firmou Polaro-Sensors. Jako referenční sloužila nasycená kalomelová elektroda (SKE), vůči níž jsou uváděny všechny hodnoty potenciálů. Pomocnou elektrodu tvořil platinový drátek o průměru 1,0 mm a délky 7 mm. Vzdušný kyslík byl z roztoků odstraňován probubláním dusíkem. Měření byla prováděna při laboratorní teplotě.

#### Popis aplikace meniskové pevné amalgamové elektrody

Pro úspěšnou aplikaci m-MeSAE jsou nutné tři základní operace: amalgamace, aktivace a regenerace.

Amalgamace MeSAE se provádí jednou týdně, nebo je-li třeba, kdykoliv dříve (například při zhoršení citlivosti či reprodukovatelnosti měření, při nepřítomnosti menisku kapalného amalgámu na povrchu elektrody apod.).

Do lahvičky (objemu 10–20 ml) se dá 1–2 ml kovové rtuti a 5–10 ml redestilované vody. Dolní část MeSAE se ponoří do rtuti a intenzivně se lahvičkou se rtuťí přibližně 15 s míchá. Poté se lahvička vzduchotěsně uzavře a uloží na bezpečné místo před dalším použitím (uvedené množství rtuti stačí pro mnohaletou opakovanou amalgamací elektrody). MeSAE se opláchne redestilovanou vodou, zkontroluje se (nejlépe pomocí lupy) přítomnost menisku rtuti na dolní části elektrody. Není-li přítomen, popsána operace se opakuje.

Aktivace MeSAE (trvající asi 5 minut), se provádí vždy na začátku pracovního dne, po přestávce v měřeních delší než 1 hodina a po amalgamací.

Během aktivace ( $E_{\text{aktivace}} = -2200$  mV,  $t_{\text{aktivace}} = 300$  s,

\* Věnováno památce profesora Jaroslava Heyrovského u příležitosti 80. výročí objevu polarografické metody.

vzdušný kyslík se nevybublává) se z menisku (filmu) MeSAE odstraňují oxidy a adsorbované látky, čímž se zlepšuje citlivost a reprodukovatelnost následných měření. Nejdříve je třeba (nejlépe pomocí lupy) ověřit přítomnost menisku rtuti; není-li přítomen, provede se amalgamace. Do nádoby analyzátoru se dá 10 ml 0,2 M-KCl, v programu analyzátoru se otevře vzorek, kde jsou uloženy výše uvedené parametry aktivace (obvykle <Aktivace\_AE.1>) a provede se jedno měření.

Regenerace MeSAE, trvající asi 30 s, se provádí v analyzovaném roztoku před každým měřením automaticky, a to vždy po spuštění měřicího programu; tím se docílí dobré opakovatelnosti výsledků při obvyklé odchylce menší než 2–3 %. Parametry regenerace MeSAE jsou předdefinované v programu analyzátoru PC-ETP a jejich nastavení nebo změna se provádí v příslušném okně programu. Pro obnovení povrchu MeSAE postačí většinou vložit na elektrodu po dobu 20–30 s potenciál o 50–100 mV pozitivnější než potenciál vylučování vodíku nebo rozkladu základního elektrolytu. Při tomto potenciálu dochází k redukci oxidů kovů tvořících pevný amalgám (v případě AgSAE jsou to Hg a Ag), jakož i k odstranění adsorbovaných látek. Současně s tím však probíhá akumulace většiny kovů přítomných v analyzovaném roztoku. Aby se zabránilo nekontrolovatelnému procesu této akumulace, zahrnuje měřicí program skokové změny potenciálu z negativních hodnot na pozitivnější, při nichž dochází k rozpouštění naakumulovaných kovů. Hodnota pozitivnějšího potenciálu regenerace by však neměla být taková, aby docházelo k rozpouštění materiálu elektrody nebo k rozkladu základního elektrolytu. Tak např. proces regenerace m-AgSAE v 0,4 M octanovém pufru o hodnotě pH 4,6–5,0 spočívá v aplikaci 50 polarizačních cyklů, při nichž se vždy po dobu 0,3 s vkládá na pracovní elektrodu střídavě o –1300 mV.

### Mineralizace vzorků

Organické látky obsažené v přírodních a odpadních vodách, ve vyluzích z půd, v tělních tekutinách apod. mohou podstatně ovlivnit průběh voltametrického měření a výsledky analýzy. Mineralizace takových vzorků se provádí různými způsoby a s použitím různých oxidačních činidel. Pitná voda by neměla obsahovat tak velké množství organických sloučenin, aby byly výsledky analýzy podstatně ovlivněny; ve většině takových případů proto není nutno vodu mineralizovat. Pevné vzorky (potravin, rostlin, surovin, rudy aj.) je třeba rozkládat (mineralizovat) podle metodik vypracovaných pro konkrétní typ vzorku.

Pro mineralizaci vzorků různých druhů vod a výluhů z půd lze doporučit následující postup:

Do příslušné baňky nebo nádoby se dá 5–100 ml kapalného vzorku, přidá se 1 ml koncentrované kyseliny dusičné a 1 ml 30% roztoku peroxidu vodíku. Směs se odpaří do sucha, odparek se ochladí na teplotu okolí, znovu se přidá 1 ml koncentrované kyseliny dusičné a 1 ml 30% roztoku peroxidu vodíku a roztok se znovu odpaří do sucha. Je-li suchý odparek bílý nebo žlutavý (sloučeniny železa), je mineralizace ukončená. Je-li odparek hnědý, přidávání a odpařování oxidantů se opakuje. V tomto mineralizovaném suchém stavu je možné vzorky pohodlně uchovávat a transportovat, pakliže nelze provést analýzu ihned na místě.

K suchému odparku se přidá 10–25 ml 0,1 M-HCl. Roztok

se zahřívá a míchá, dokud se neobjeví pára; poté se ochladí, a pokud je to nutné, prefiltruje se. Takto připravený mineralizát vzorku se používá pro voltametrická měření.

Jestliže se nepředpokládá analýza mineralizátu během téhož dne, kdy byl připraven, přidá se k suchému odparku asi 10 ml 0,1 M-HCl. Směs se zahřívá a míchá, až se objeví pára, poté se ochladí a kvantitativně se přenesení do odměrné baňky objemu 25 ml. Po doplnění 0,1 M-HCl na objem 25 ml se roztok protřepe.

Uvedený způsob mineralizace nelze doporučit pro analýzu moči, protože i při mnohonásobně opakovaném přidávání a odpařování oxidantů nelze dosáhnout úplného rozkladu přítomných organických látek. Postačujícího stupně mineralizace moči je možné dosáhnout využitím pozměněné metodiky<sup>26</sup>. Do vhodné kádinky (Kjeldahlovy baňky) se přenesení 1,0 ml analyzované moči, přidají se 2 ml 2 M-KNO<sub>3</sub> a při malém výkonu vaříče se odpaří do sucha. Poté se zvýší výkon vaříče, přičemž se mineralizovaná směs zahřívá do roztavení KNO<sub>3</sub> a následujícího odbarvení taveniny. Kádinka se ochladí na teplotu okolí a ke vzniklé tavenině se přidá 10–25 ml 0,1 M-HCl. Roztok se pak za míchání zahřívá, dokud se neobjeví pára a tavenina se nerozpustí; pak se ochladí, a pokud je to nutné, prefiltruje se. Takto připravený mineralizát vzorku je připraven pro voltametrickou analýzu.

Roztavený dusičnan draselný je velmi účinným oxidačním činidlem a může se úspěšně používat i pro mineralizaci jiných složitých vzorků, jako je krev, některé druhy odpadních vod apod.

Souběžně s mineralizací analyzovaných vzorků se jako slepý pokus provádí „mineralizace“ stejného objemu redestilované vody při aplikaci zcela totožných operací.

Při použití mineralizace na suché cestě se k suchému zbytku přidává 10–25 ml 0,1 M-HCl, načež se postupuje výše popsáním způsobem.

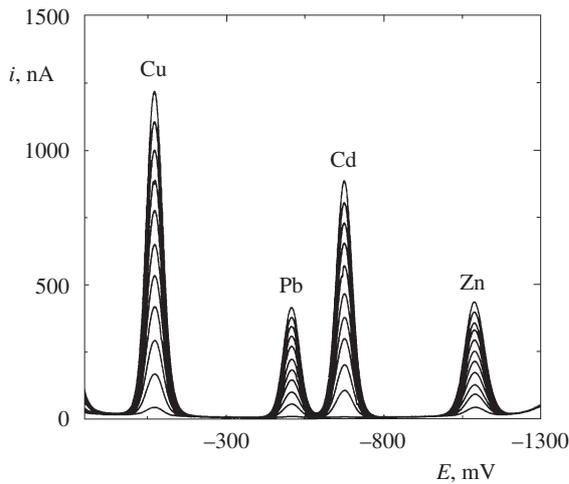
### Příprava roztoků pro voltametrická měření

Stanovení Cu<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> a Zn<sup>2+</sup>. V závislosti na předpokládané koncentraci iontu daného kovu ve vzorku se do polarografické nádoby přidá 1–6 ml mineralizátu vzorku (doplní se redestilovanou vodou na objem 6 ml) a 4 ml 1 M octanového pufru o hodnotě pH 4,8–5,0.

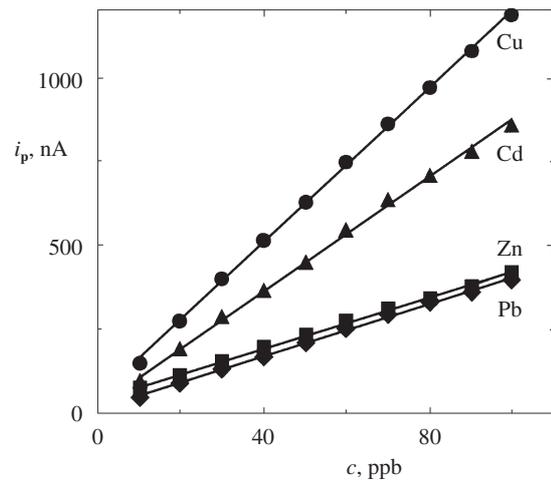
Stanovení TI<sup>+</sup>. V závislosti na předpokládané koncentraci thalných iontů ve vzorku se do polarografické nádoby přidá 1–5 ml mineralizátu vzorku (doplní se redestilovanou vodou na objem 5 ml), 4 ml 1 M octanového pufru o hodnotě pH 4,8–5,0 a 1,0 ml 0,1 M-Na<sub>2</sub>EDTA.

### Výsledky a diskuse

Stříbrná pevná amalgamová elektroda dovoluje stejně jako HMDE stanovit měď, olovo, kadmium a zinek během jednoho potenciálového scanu. Na obrázku 1a jsou uvedeny voltametrické záznamy těchto prvků při různých koncentracích. Lineární závislost proudu ( $i_p$ ) na koncentraci sledovaných iontů (obr. 1b) a výsledky statistického zpracování opakovaných měření (tabulka I) svědčí o dobré aplikovatelnosti m-AgSAE pro analytické účely. Je známo, že použití analogového zapisovače pro voltametrický záznam současného stanovení několika látek je možné za předpokladu, že jejich koncentrace



Obr. 1a. Kalibrační záznamy získané při stanovení  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  a  $\text{Zn}^{2+}$  na rtuťovém meniskem modifikované stříbrné pevné amalgamové elektrodě m-AgSAE; experimentální podmínky: základní elektrolyt 0,4 M octanový pufr, pH 4,8; potenciál akumulace  $-1300$  mV; doba akumulace 180 s v míchaném roztoku; regenerace m-AgSAE po dobu 30 s automaticky před každým měřením, koncentrace iontů kovů: 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 a 100 ppb



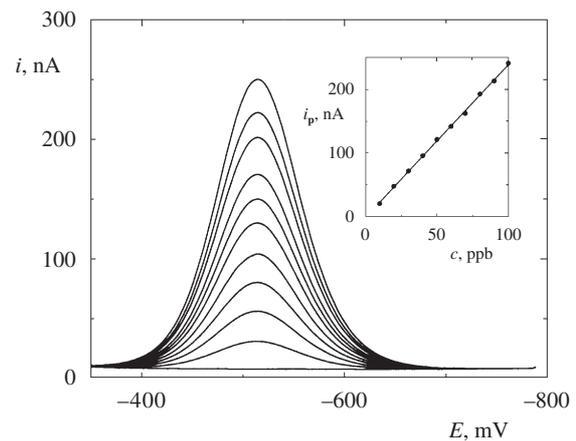
Obr. 1b. Kalibrační křivky  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  a  $\text{Zn}^{2+}$  odpovídající záznamům na obr. 1a;  $i_{p\text{Cu}} = 11,47c + 49,55$ ,  $R^2 = 0,9995$ ;  $i_{p\text{Pb}} = 3,83c + 15,78$ ,  $R^2 = 0,9981$ ;  $i_{p\text{Cd}} = 8,44c + 25,24$ ,  $R^2 = 0,9985$ ;  $i_{p\text{Zn}} = 3,76c + 42,16$ ,  $R^2 = 0,9984$

#### Tabulka I

Statistické zpracování opakovaných měření; experimentální podmínky pro současné stanovení  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  a  $\text{Zn}^{2+}$ : základní elektrolyt 0,4 M octanový pufr, 0,06 M-NaCl, pH 4,6;  $E_{ac} = -1300$  mV;  $E_{fin} = +50$  mV;  $t_{ac} = 300$  s v míchaném roztoku; regenerace m-AgSAE po dobu 30 s automaticky před každým měřením; koncentrace jednotlivých kovových iontů 20 ppb; počet měření 11. Experimentální podmínky pro  $\text{Tl}^+$ : základní elektrolyt 0,4 M octanový pufr, 0,05 M-NaCl, 0,01 M- $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , pH 4,6;  $E_{ac} = -800$  mV;  $E_{fin} = -250$  mV;  $t_{ac} = 180$  s v míchaném roztoku; regenerace m-AgSAE po dobu 30 s automaticky před každým měřením; koncentrace  $\text{Tl}^+$  20 ppb; počet měření 11

Parametr	$\text{Cu}^{2+}$	$\text{Pb}^{2+}$	$\text{Cd}^{2+}$	$\text{Zn}^{2+}$	$\text{Tl}^+$
Průměrná výška píku [nA]	216,5	77,3	157,2	127,5	50,8
Interval spolehlivosti [nA]	0,8	0,6	1,8	1,3	0,2
Směrodatná odchylka [nA]	1,1	0,9	2,8	1,9	0,3
Relativní směrodatná odchylka [%]	0,5	1,2	1,8	1,5	0,7
Mez detekce ( $3 \times \text{SD}$ ) [ppb]	0,3	0,7	1,1	0,9	0,4

se vzájemně neliší o více než jeden řád (při měření s počítačem řízeným analyzátozem jsou tyto možnosti podstatně širší – viz dále). Mnohdy není tato podmínka splněna, a proto bývá nutné provádět analýzu jednotlivých látek postupně; současně to vyžaduje správně nastavit optimální potenciál akumulace ( $E_{ac}$ ) a potenciál, při kterém se scan ukončí ( $E_{fin}$ ). Tyto potenciály činí pro  $\text{Cu}^{2+}$   $-400$  a  $+50$  mV;  $\text{Pb}^{2+}$   $-800$  a  $-200$  mV;  $\text{Cd}^{2+}$   $-1000$  a  $-500$  mV a pro  $\text{Zn}^{2+}$   $-1300$  a  $-700$  mV. Pokud je koncentrace daného iontu v roztoku  $c \geq 0,5$  ppm, lze voltamet-



Obr. 2. Kalibrační záznamy a jim odpovídající kalibrační křivka získané při stanovení  $\text{Tl}^+$  na m-AgSAE; experimentální podmínky: základní elektrolyt 0,4 M octanový pufr, 0,05 M-NaCl, 0,01 M- $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , pH 4,6; potenciál akumulace  $-800$  mV; doba akumulace 180 s v míchaném roztoku; regenerace m-AgSAE po dobu 30 s automaticky před každým měřením, koncentrace iontů thalia: 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 a 100 ppb;  $i_{p\text{Tl}} = 2,40c - 1,59$ ,  $R^2 = 0,999$

rický scan registrovat od počátečního potenciálu  $E_{in}$  (rovnajícího se hodnotě  $E_{ac}$ ) bez uplatněné akumulace ( $t_{ac} = 0$  s).

V použitém základním elektrolytu se píky olova a thalia překrývají. Přídavek silně komplexotvorné látky  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  posouvá potenciál akumulace a potenciál píku olova k negativnějším hodnotám, a dovoluje tak stanovit thalium i ve 100 násobném nadbytku iontů  $\text{Pb}^{2+}$  a  $\text{Cd}^{2+}$ . Obrázek 2 a tabulka I demonstrují vysokou citlivost a přesnost stanovení  $\text{Tl}^+$ .

Aplikovatelnost m-AgSAE pro analýzu uvedených iontů kovů byla testována na modelovém roztoku simulujícím vzorek povrchových vod po mineralizaci při obsahu sledovaných látek na úrovni povolených mezí daných příslušnou normou<sup>1</sup>:

Tabulka II

Statistické zpracování analýz modelového roztoku; experimentální podmínky pro současné stanovení  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  a  $\text{Zn}^{2+}$ : základní elektrolyt 0,4 M octanový pufr, 0,06 M-NaCl, pH 4,6;  $E_{ac} = -1300$  mV;  $E_{fin} = +50$  mV;  $t_{ac} = 180$  s v míchaném roztoku; regenerace m-AgSAE po dobu 30 s automaticky před každým měřením; počet měření 11. Experimentální podmínky pro  $\text{Tl}^+$ : základní elektrolyt 0,4 M octanový pufr, 0,05 M-NaCl, 0,01 M- $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , pH 4,6;  $E_{ac} = -800$  mV;  $E_{fin} = -250$  mV;  $t_{ac} = 300$  s v míchaném roztoku; regenerace m-AgSAE po dobu 30 s automaticky před každým měřením; počet analýz 11

Kov	$\text{Cu}^{2+}$		$\text{Pb}^{2+}$		$\text{Cd}^{2+}$		$\text{Zn}^{2+}$		$\text{Tl}^+$	
	0,1		0,1		0,005		0,2		0,005	
Koncentrace iontů [ $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ]										
Měření výšky píků	ručně <sup>a</sup>	auto <sup>b</sup>	ručně <sup>a</sup>	auto <sup>b</sup>	ručně <sup>a</sup>	auto <sup>b</sup>	ručně <sup>a</sup>	auto <sup>b</sup>	ručně <sup>a</sup>	auto <sup>b</sup>
Průměrná koncentrace iontů [ $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ]	0,1046	0,1066	0,1047	0,1048	0,00528	0,00526	0,209	0,211	0,00490	0,00496
Interval spolehlivosti [ $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ]	0,0053	0,0069	0,0064	0,0066	0,00037	0,00036	0,012	0,012	0,00024	0,00024
Směrodatná odchylka [ $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ]	0,0079	0,0104	0,0096	0,0099	0,00055	0,00055	0,019	0,019	0,00036	0,00036
Relativní směrodatná odchylka [%]	7,6	9,8	9,2	9,5	10,5	10,4	8,9	8,8	7,3	7,2

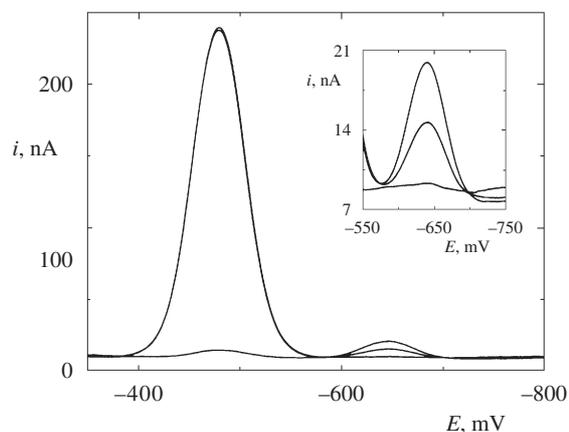
<sup>a</sup> Postupné vyhodnocování jednotlivých křivek; <sup>b</sup> automatické zpracování naměřených křivek pomocí funkce <AutoPeak> programu analyzátoru

0,1 M roztok HCl s 0,1 ppm  $\text{Cu}^{2+}$ , 0,1 ppm  $\text{Pb}^{2+}$ , 0,005 ppm  $\text{Cd}^{2+}$ , 0,2 ppm  $\text{Zn}^{2+}$ , 0,005 ppm  $\text{Tl}^+$ . Limit obsahu thalia není sice zakotven v normách na čistotu vod, avšak s ohledem na údaje o jeho toxicitě byla modelová koncentrace  $\text{Tl}^+$  zvolena stejná jako u kadmia. Příprava roztoků pro voltametrická stanovení se prováděla podle postupu popsaného v experimentální části. Všechny kovy, kromě thalia, byly analyzovány v rámci jednoho scanu. Jejich kvantitativní obsahy byly pak určeny metodou standardního přidavku, která je pro vzorky obsahující složitou a špatně definovanovatelnou matici a pro pevné elektrody podstatně spolehlivější a přesnější, než metoda kalibračních křivek. Výsledky měření 11 modelových vzorků jsou shrnuty v tabulce II a nasvědčují tomu, že použité uspořádání a analytické postupy lze dobře aplikovat pro analýzy zmíněných iontů.

Při hodnocení výsledků měření je v programu analyzátoru dána možnost automatického zpracování křivek (funkce <AutoPeak>). Jak je zřejmé z tabulky II, je shodnost výsledků automatického hodnocení (při velké úspoře pracovního času s tím spojené) velmi dobře srovnatelná s postupným ručním vyhodnocováním jednotlivých křivek; k automatickému vyhodnocování přitom postačí, aby uživatel zadal potenciál vrcholů píků měřeného kovu a dal k hodnocení pokyn kliknutím na příslušnou ikonu.

To, že program analyzátoru<sup>27</sup> dovoluje označit a zvětšit určenou část voltamogramů, umožňuje i velmi účinnou analýzu minoritních složek při velkém přebytku jiných látek v daném roztoku. Příkladem je stanovení 1 ppb kadmia v přítomnosti 100 ppb olova ilustrované na obrázku 3. Nebyť této možnosti, bylo by vyhodnocování malých píků kadmia vedle velkých píků olova provedeno s velkou chybou. Vysoká hustota vzorkování a možnost zvětšení výseku oblastí voltametrických píků kadmia poskytují optimální podmínky pro přesnost určení výšky a polohy píků.

Zvýšení citlivosti analýz lze dosáhnout též prodloužením doby akumulace  $t_{ac}$ . V případě DPV 10 ppb  $\text{Pb}^{2+}$  v 0,2 M octanovém pufru o pH 4,8 byla výška píku ve stanoveném rozsahu od 0,5 do 60 minut přímo úměrná  $t_{ac}$  s vysokou hodnotou korelačního koeficientu ( $R^2 = 0,9996$ ). HMDE za stejných podmínek poskytovala lineární závislost  $i_p-t_{ac}$  v roz-



Obr. 3. DP voltamogramy olova a kadmia v poměru 100:1, získané na m-AgSAE; experimentální podmínky: základní elektrolyt 0,4 M octanový pufr, 0,06 M-NaCl, pH 4,6; potenciál akumulace -1000 mV; doba akumulace 180 s v míchaném roztoku; regenerace m-AgSAE po dobu 30 s automaticky před každým měřením, koncentrace olovnatých iontů 0, 100, 200 ppb; koncentrace kademnatých iontů 0, 1, 2 ppb. V menším rámečku je zobrazen zvětšený pík kadmia

mezí 0,5–10 minut. Kratší lineární úsek na HMDE je způsoben difuzí olova do kapiláry elektrody. Prodloužení  $t_{ac}$  může tak být podle potřeby využito pro další zvýšení citlivosti analýzy.

Pro roztok půd, rud, některých druhů slitin apod., se mimo jiných činidel často používá kyseliny fluorovodíkové. Při práci se skleněnými kapilárami HMDE musí být však roztok neutralizován, jelikož by i ve slabě kyselém prostředí došlo brzy ke zničení kapiláry. Naopak, pomocí m-AgSAE lze ve zředěné HF pracovat dlouhodobě, bez nežádoucích účinků na elektrodu.

## Závěr

Stříbrná pevná amalgamová elektroda modifikovaná rtuťovým meniskem se svými vlastnostmi podobá HMDE. Při

stanovení v článku zmíněných kovů jsou hodnoty potenciálů píků a proudů pozadí na m-AgSAE a HMDE velmi blízké. Výše popsané kovy (měď, olovo, kadmium, zinek a thalium) lze s pomocí m-AgSAE analyzovat s dostatečnou citlivostí a přesností. Program analyzátoru dovoluje provádět analýzu i velmi malých množství jedné látky v přebytku ostatních, např. kadmia v přítomnosti 100 násobného přebytku olova. Použití automatického hodnocení naměřených křivek podstatně zkracuje dobu analýzy bez zhoršení její kvality. Ve srovnání s HMDE představuje tak m-AgSAE účinnou alternativu pro většinu analytických aplikací v řadě směrů, jako jsou měření v terénu či v průtokových systémech; práce s m-AgSAE je přitom i pohodlnější.

*Autoři děkují za finanční podporu grantu č. 101/02/U111/CZ.*

#### LITERATURA

1. Nařízení Vlády ČR č. 82/1999 Sb. ze dne 22. března 1999, kterým se stanoví ukazatele a hodnoty přípustného stupně znečištění vod. Sbírka zákonů 1999, částka 30, str. 2313.
2. Vyhláška Ministerstva zdravotnictví ČR č. 376/2000 Sb. ze dne 9. září 2000, kterou se stanoví požadavky na pitnou vodu a rozsah a četnost její kontroly. Sbírka zákonů 2000, částka 103, str. 4879.
3. Vyhláška Ministerstva životního prostředí ČR č. 13/1994 Sb., kterou se upravují některé podrobnosti ochrany zemědělského půdního fondu. Sbírka zákonů 1994, částka 4, str. 82.
4. Vyhláška Ministerstva zemědělství ČR č. 474/2000 Sb. ze dne 13. prosince 2000 o stanovení požadavků na hnojiva. Sbírka zákonů 2000, částka 137, str. 7494.
5. Metodický návod č. HEM-340.2-27.4.90 Ministerstva zdravotnictví ČR k provádění a hodnocení expozičních testů. Věstník MZd ČR, 5, 1992.
6. Vydra F., Štulík K., Juláková E.: *Rozpouštěcí polarografie a voltametrie*. SNTL, Praha 1977.
7. Wang J.: *Analytical Electrochemistry*, 2. vyd. Wiley-VCH, New York 2000.
8. Yosypchuk B., Povkhan M. F., Karnaukhov O. I.: *Ukr. Khim. Zh.* 52, 733 (1986).
9. Kirowa-Eisner E., Brand M., Tzur D.: *Anal. Chim. Acta* 385, 325 (1999).
10. Yosypchuk B., Povkhan M. F., Karnaukhov O. I.: *Ukr. Khim. Zh.* 57, 166 (1991).
11. Kounaves S. P., Wen Deng, Hallock P. R.: *Anal. Chem.* 66, 418 (1994).
12. Cizskowska M., Donten M., Stojek Z.: *Anal. Chem.* 66, 4112 (1994).
13. Gooding J. J., Hibbert D. B., Yang W.: *Sensors* 1, 75 (2001).
14. Navrátil T., Kopanica M.: *Crit. Rev. Anal. Chem.*, v tisku.
15. Navrátil T., Kopanica M.: *Chem. Listy* 96, 111 (2002).
16. Brainina K., Hence G., Stojko N., Malakhova N., Faller C.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 364, 285 (1999).
17. Konvalina J., Vytřas K.: *Chem. Listy* 95, 344 (2001).
18. Konvalina J., Khaled E., Vytřas K.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 65, 1047 (2000).
19. Brainina K. Z., Malakhova N. A., Stojko N.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 368, 307 (2000).
20. Novotný L., Yosypchuk B.: *Chem. Listy* 94, 1118 (2000).
21. Yosypchuk B., Novotný L.: *US – CZ Workshop on Electrochemical Sensors, Prague*. Book of Abstracts, str. 26. Czech Chemical Society, Prague 2001.
22. Yosypchuk B., Novotný L.: *Talanta* 56, 971 (2002).
23. Yosypchuk B., Novotný L.: *Electroanalysis*, v tisku.
24. Yosypchuk B., Novotný L.: *Crit. Rev. Anal. Chem.*, v tisku.
25. Novotný L.: *Chem. Listy* 95, 147 (2001).
26. Bardoděj Z., David A., Šedivec V., Škramovský S., Teisinger J.: *Expoziční testy v průmyslové toxikologii*, str. 137. Avicenum, Praha 1980.
27. Dřevínek M., Trojánek F.: *Chem. Listy* 95, 231 (2001).

#### **B. Yosypchuk and L. Novotný (J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague): Voltammetric Determination of Cu, Pb, Cd, Zn and Tl using the Silver Solid Amalgam Electrode**

Use of the nontoxic pen-type mercury-meniscus-modified silver solid amalgam electrode (m-AgSAE) for voltammetric determination of Cu, Pb, Cd, Zn and Tl was described. The obtained repeatability and detection limit amounted to  $\pm 2\%$  and 1 ppb, respectively. m-AgSAEs could be completely renewed by applying an appropriate electrochemical pretreatment. Use of the PC-controlled measuring system enabled getting rapidly the data and corresponding concentration dependences in automatic mode, even under conditions, when the ratio between concentrations of the analyte and the other depolarizers was 1:100. m-AgSAEs proved to be suitable for numerous types of rapid voltammetric measurements not only in laboratories, but also in the field, flow-through systems, etc.

## VÝUKA CHEMIE

### VYUŽITÍ MIKROVLNNÉHO OHŘEVU V LABORATORNÍCH CVIČENÍCH STUDENTŮ A PRO DEMONSTRAČNÍ POKUSY

JANA ŠAULIOVÁ

*Katedra chemie, Pedagogická fakulta, Univerzita J. E. Purkyně, České mládeže 8, 400 96 Ústí nad Labem  
e-mail: sauliova @pf.ujep.cz*

Došlo dne 8. XI. 2001

Klíčová slova: mikrovlnné záření, laboratorní cvičení z organické chemie

### Úvod

V letech 1980–90 byl zjištěn významný vliv mikrovlnného pole na rychlost a selektivitu reakcí organických sloučenin. První práce, které popisují cílené využití mikrovlnného záření v organické syntéze, publikované v roce 1986 téměř současně dvěma nezávislými kolektivy (Gedye a spol.<sup>1</sup>, Giguere a spol.<sup>2</sup>) uváděly urychlení reakcí o 2–3 řády. Pokusy byly nejprve prováděny v běžných mikrovlnných troubách používaných v domácnosti; dnes už se v laboratořích většinou používají mikrovlnná zařízení od různých zahraničních firem, jako jsou Milestone (Itálie), CemCorp (USA), Prolabo (Francie) a Plasmatronika (Polsko). Výhodou těchto zařízení je především možnost plynulé regulace výkonu, vyšší homogenita pole, průběžná kontrola teploty, možnost míchání i připojení chladiče.

Od 80. let počet publikací týkajících se reakcí v mikrovlnném prostředí značně vzrostl. Bylo zjištěno, že k významnému zkrácení reakčních dob dochází např. u esterifikačních reakcí, Dielsových–Alderových cykloadicí, alkylačních, acylačních a aldolizačních reakcí. Přehled reakcí, u kterých se příznivě uplatnil vliv mikrovlnného prostředí, můžeme nalézt v referátu Tomy<sup>3</sup>, nebo v monografii Microwave-Enhanced Chemistry<sup>4</sup>, případně ve sborníku mezinárodní konference o mikrovlnné chemii, která se konala v roce 1998 v Praze<sup>5</sup>.

Mikrovlny mají i významné použití v praxi; kromě původního uplatnění v radarové technice a dnes běžného využití v domácnostech se používají k přehřevu plastů a pryže před zpracováním, k sušení různých materiálů, např. papíru, některých keramických a farmaceutických produktů, lze je použít i ke sterilizaci půdy nebo osiv. V laboratořích jsou využívány k rozkladům vzorků pro analýzu těžkých kovů atomovou absorpční spektroskopii<sup>6–8</sup> a známé je i použití k rozkladu polychlorovaných bifenylů. Výhodné jsou také extrakce provedené v mikrovlnném prostředí, např. při přípravě vzorků k chromatografické nebo spektrální analýze<sup>9–11</sup>, které přinášejí značnou úsporu času ve srovnání s časově náročnou Soxhle-

ovou extrakcí. Zajímavé praktické využití nabízí i mikrovlnná sklářská pec, která je vynálezem pracovníků mikrovlnné laboratoře Ústavu chemických procesů AV ČR v Praze. Uplatnění v praxi nachází mikrovlnná chemie i v organické syntéze, např. při výrobě léčiv<sup>12</sup>. Na některých vybraných zahraničních univerzitách se dokonce začala mikrovlnná chemie vyučovat jako samostatný předmět.

### Vliv mikrovlnného záření na chemické reakce

Zdrojem mikrovlnného záření v mikrovlnných reaktorech je generátor pracující obvykle při frekvenci 2450 MHz, kterou používají i mikrovlnné trouby v domácnostech. Podstata účinku mikrovlnného záření spočívá v jeho interakci s polárními molekulami. Ty se snaží orientovat ve směru oscilujícího elektrického pole, a proto dochází k jejich rotaci ve směru pole. Osciluje-li pole rychle (při frekvenci 2450 MHz mění za sekundu svůj směr  $2,45 \cdot 10^9$  krát), nestačí molekuly tuto změnu směru elektrického pole sledovat, a důsledkem je i absorpce energie záření. Výsledkem samotné rotace a absorpce energie je zvýšení teploty<sup>3</sup>. Při rychlém ohřátí kapalin je konvekce k povrchu kapaliny, kde dochází k odpařování, nedostatečná a nadbytek energie se projeví jako přehřátí<sup>4</sup>. Tento tzv. „superheating effect“ bývá u polárních rozpouštědel 10–20 °C nad teplotu varu, což je příčinou urychlení reakce. Vysoké urychlení (u některých reakcí až o několik řádů) však nelze vysvětlit pouze rychlejším ohřevem a přehřátím reakčního prostředí. Ukazuje se, že pokud je mikrovlnné záření absorbováno pouze rozpouštědlem, je urychlení malé. K výraznému urychlení dochází, je-li záření absorbováno i substrátem nebo katalyzátorem<sup>13</sup>. Zvýšení teploty v reakční směsi není zřejmě rovnoměrné, výrazně k němu dochází v určitých centrech, tzv. horká místa (hot spots)<sup>14</sup>.

Podstatné vlastnosti, které ovlivňují interakci látky s mikrovlnným zářením, jsou dipólový moment, tepelná kapacita, tepelná vodivost, fyzikální stav látky ovlivňující možnost rotace molekul a u kapalných látek i jejich výparné teplo. I když mechanismus urychlení reakcí není ještě zcela objasněn, lze podle dosavadních výsledků očekávat urychlení tehdy, když reagují polární látky a reakce se zúčastní vazby s vysokým dipólovým momentem<sup>3</sup>. Vyšší urychlení se projevuje častěji u níže uvedených rozpouštědel a v některých případech také záleží na objemu reakční směsi (urychlení bývá vyšší u menších objemů)<sup>4</sup>.

### Výhody a nevýhody využití mikrovlnného ohřevu při výuce

Mikrovlnný ohřev se může velmi dobře uplatnit u vhodné zvolených reakcí v laboratorních cvičeních z organické chemie a biochemie. Některé reakce by mohly být využity i pro demonstrační pokusy v hodinách chemie na středních nebo základních školách, zvláště tam, kde není do učebny zaveden plyn. Při použití ve školách ocení učitelé a studenti především tyto výhody mikrovlnného ohřevu:

- významné zkrácení ohřívací periody,
- vyšší reakční rychlost, vyšší výtěžky, vyšší selektivitu (stačí provádět pokusy v menším měřítku, což umožňuje úsporu chemikálií a současně zjednodušuje řešení otázky likvidace odpadních látek),
- ohřev je rovnoměrný v celém objemu reakční směsi, a pokud se reakce provádějí ve vhodném vysokotlakovém polárním rozpouštědle pod jeho teplotou varu, nevyžadují míchání,
- u rychlých reakcí prováděných v malém měřítku (reakční doby kolem 1 minuty) není nutné stavět aparaturu, stačí kádinka přikrytá Petriho miskou (ušetří se čas i nádobí),
- lze provádět několik důkazových reakcí najednou,
- z hlediska bezpečnosti práce jsou rizika menší než při použití otevřeného plamene.

Výrazným zkrácením reakční doby časově náročnějších reakcí odpadá pro studenty málo zajímavá, neaktivní doba kontroly probíhající reakce a není také problém méně úspěšnou preparaci zopakovat. Ušetřený čas lze věnovat dalším experimentům, stanovení vlastností produktů, zpracování výsledků, nebo se student může tvořivě zúčastnit menšího výzkumu pod dohledem pedagoga (např. lze sledovat vliv změny podmínek nebo množství reaktantů na průběh reakce, příkladem může být dehydratace cyklohexanolu uvedená v experimentální části). Takové vedení laboratorních cvičení na vysoké škole by bylo velmi užitečné a na střední škole by taková práce mohla být náplní chemického kroužku nebo tématem pro Soutěž středoškolské odborné činnosti.

Hlavní překážkou využití mikrovlnného ohřevu ve školách budou zřejmě pořizovací náklady na mikrovlnný reaktor. Pro řadu pokusů lze použít kuchyňskou mikrovlnnou troubu o výkonu alespoň 800 W (bez speciálních úprav, vhodnější jsou dva výstupy magnetronu). Kuchyňské mikrovlnné trouby se dokonce i v současné době využívají při výzkumné práci v chemických laboratořích (příkladem mohou být publikace z r. 1999 (cit. <sup>15,16</sup>)), protože jejich cena je jen zlomkem ceny laboratorních mikrovlnných reaktorů. Významnou nevýhodou je omezená možnost regulace výkonu mikrovlnné trouby (běžná regulace u kuchyňské mikrovlnné trouby spočívá pouze ve vypínání a zapínání magnetronu). Do určité míry lze regulovat množství mikrovlnného záření vstupujícího do reakční směsi tím, že do mikrovlnné trouby umístíme spolu s reakční nádobou i kádinku s vhodně zvoleným množstvím vody (voda v kádince odvede část energie mikrovlnného záření).

Pro pokusy, které vyžadují míchání a připojení chladiče, je možné nechat mikrovlnnou troubu profesionálně upravit, náklady na úpravu jsou přibližně stejné jako její nákupní cena (cca 6000 Kč). Při krátkodobém ohřevu k varu je možné se obejít bez teploměru, jinak je třeba zakoupit speciální, např. infračervený teploměr.

Základní zásady bezpečné práce s mikrovlnnou troubou nebo reaktorem jsou uvedeny v každém návodu na jejich použití. Je nutné zdůraznit, že nelze používat žádné kovové nádoby (vhodné jsou skleněné, keramické nebo teflonové) ani jiné předměty, jejichž součástí je kov, např. rtuťový teploměr. Reakční nádoby nesmějí být zcela uzavřené a při použití běžné mikrovlnné trouby nelze pracovat s těkavými a současně agresivními nebo extrémně hořlavými látkami. Kádinky a baňky je třeba zakrýt Petriho miskou nebo hodinovým sklem. Mikrovlnná trouba po uplynutí nastaveného času sama vypne,

takže by nemělo dojít k přehřátí reakční směsi. Pro těkavější látky je vhodné použít větší baňky nebo kádinky a krátce zahřát k varu nebo použít výševroucí rozpouštědla a zahřívání pod teplotou varu. Studenti nesmějí zapomenout, že reakční nádoba je po ukončení reakce horká. Zařízení musí být profesionálně odzkoušené, aby nedocházelo k úniku mikrovlnného záření.

U navržených pokusů, které běžně trvají cca 1 minutu nebo maximálně několik minut, by prakticky nemělo dojít k rizikovému přehřátí a také jsme se s ním nesetkali. Došlo k němu pouze u pokusů trvajících déle než 1 hodinu (při výkonu magnetronu 800 W), když jsme substrát zahřívali pod zpětným chladičem s roztoky hydroxidu sodného. Hydroxid se při míchání za varu vyloučil v malém množství na stěnách baňky. Vzhledem k tomu, že silně absorbuje mikrovlnné záření, došlo k lokálnímu přehřátí a baňka praskla. Podobný efekt by mohla mít každá silně absorbující nečistota na stěnách baňky. Při případném vylití reakční směsi uvnitř mikrovlnné trouby by nemělo dojít k jejímu poškození (vnitřní prostor je v takovém případě třeba vytřít a důkladně opláchnout vodou). Důležité je, aby při práci nedošlo k poškození dvířek mikrovlnné trouby. Jinak pro práci platí základní zásada běžná pro všechna laboratorní cvičení – student provádí jen pokusy, které provádět má, a bez vědomí pedagoga nemění předepsaný postup.

## Experimentální část

V této části jsou uvedeny příklady pokusů, které by mohly mít využití ve školách. Pro většinu jsme použili mírně modifikované postupy popsané v příručce pro americké studenty středních škol<sup>17</sup>. Pro pokusy (s výjimkou dehydratace cyklohexanolu) lze použít kuchyňskou mikrovlnnou troubu. V našem případě to byla mikrovlnná trouba Whirlpool AVM 404 s nastavením výkonu na maximum, tj. 900 W (dále je nazývána mikrovlnná pec).

Na konci je uveden příklad z diplomové práce studenta 4. ročníku učitelství pro ZŠ Hynka Ondřeje<sup>18</sup>, který sledoval průběh dehydratace cyklohexanolu kyselinou fosforečnou v mikrovlnném prostředí při použití různého množství kyseliny a výkonu reaktoru. Tato dehydratační reakce provedená klasickým ohřevem je běžnou součástí posluchačských laboratoří z organické chemie. Student při práci používal mikrovlnný reaktor MREOS polské firmy Plasmatronika a pokusy provedl v mikrovlnné laboratoři Ústavu chemických procesů v Praze (v současné době již máme na katedře chemie PF UJEP vlastní reaktor MREOS).

### Orientační stanovení obsahu redukujícího sacharidu

Vzorek (1 g) glukosy, sacharosy, sladidla Fan Sweet (obsahuje aspartam a malé množství laktosy) nebo jiného sacharidu vložíme do 100 ml kádinky a rozpustíme ve 25 ml vody (lze použít i stejné množství ovocného džusu nebo různé koncentrované roztoky glukosy). Ke každému roztoku přidáme 5 ml Benedictova roztoku (příprava roztoku: 173 g citrnanu sodného a 100 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> rozpustíme za mírného zahřátí v 700 ml vody, roztok zfiltrujeme, k filtrátu za stálého míchání přidáme 17,3 g CaSO<sub>4</sub> rozpouštěného ve 100 ml vody a roztok doplníme na objem 1000 ml. Roztok je nutné chránit před

světlem, případně je vhodné provést jeho funkční zkoušku<sup>19</sup>. V klinické biochemii se roztok používal k semikvantitativnímu stanovení redukujících cukrů v moči). Kádinky přikryjeme Petriho miskou a zahříváme v mikrovlnné peci 30 sekund (můžeme použít najednou až 5 kádinek). Pozorujeme barevné změny, které indikují přítomnost různých množství redukujících cukrů. Od původního modrého zbarvení (značí nepřítomnost redukujícího cukru) se barva roztoků mění přes zelenou, žlutou, oranžovou až po červenou ( pro vyšší koncentrace redukujícího cukru).

Obdobně lze také provést semikvantitativní stanovení glukosy popsané v Čs. lékopise<sup>19</sup>, pouze místo klasického ohřevu zkumavek na plameni použít mikrovlnný ohřev (1 minutu). Při ověřování uvedeného stanovení jsme použili vždy 20 ml roztoku glukosy ( $c = 0,0005; 0,001; 0,002; 0,008$  a  $0,01 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) ve 100 ml kádinkách přikrytých Petriho miskou a pozorovali jsme barevné změny. Barva se měnila postupně od modré přes olivově zelenou ( $c = 0,0005 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ), zeleno-oranžovou ( $c = 0,001 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ), hnědooranžovou ( $c = 0,002 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) a červenooranžovou až červenou (pro ostatní vyšší koncentrace glukosy). Nalezené odstíny barev neodpovídaly zcela přesně odstínům popsáním v lékopise, ale vzhledem k tomu, že hodnocení podle zbarvení je značně subjektivní (tento způsob stanovení se dnes již nepoužívá) a cílem nebylo přesné stanovení koncentrace cukru, lze považovat pro didaktické účely změny barev za dostatečně ilustrující přítomnost různých množství redukujících cukrů.

#### Rychlá extrakce kofeinu z kávy nebo čaje

Do 400 ml kádinky dáme 100 ml vody a v ní rozpustíme 2 g hydrogenuhličitanu sodného, přidáme 4 zvážené sáčky porcovaného čaje (nebo můžeme použít stejné množství kávy), přikryjeme Petriho miskou a zahříváme 90 sekund v mikrovlnné peci; během zahřívání se voda uvede do varu. Po ochlazení na laboratorní teplotu (lze urychlit přidáním kostky ledu) vyjmeme čajové sáčky a roztok extrahujeme 25 ml chloroformu ve 250 ml dělicí nálevce (stačí pouze promíchat, při intenzivním třepání dochází ke vzniku emulze). Extrakt vysušíme bezvodým síranem sodným a rozpouštědlo odpaříme na odparce nebo oddestilujeme. Zvážíme získaný surový kofein (kolem 0,1 g podle druhu čaje), který můžeme přechistit sublimací. Případně můžeme provést srovnání množství surového kofeinu získaného z různých druhů čajů nebo kávy. Čistotu a množství kofeinu můžeme také stanovit pomocí

kapalinové chromatografie (vhodným rozpouštědlem je acetonitril) (cit.<sup>20</sup>).

Poznámky: V původním návodu<sup>17</sup> byl pro extrakci čaje uveden delší ohřev (2–3 minuty). Doba ohřevu k varu závisí na výkonu použité mikrovlnné pece a z bezpečnostních důvodů není vhodné nechat směs vřít prudce, stačí pouze zahřátí k varu. Autoři<sup>17</sup> použili k následné extrakci kofeinu místo chloroformu těkavější dichlormethan a rozpouštědlo nechali v digestori volně odpařit. Podle naší zkušenosti je při použití dichlormethanu tendence k tvorbě emulze větší než při použití chloroformu.

#### Příprava kyseliny acetylsalicylové (viz schéma 1)

Do 250 ml baňky s plochým dnem nebo do kádinky navážíme 5 g kyseliny salicylové a pak přidáme 5 ml acetanhydridu tak, aby pokryl všechny krystaly. Přikryjeme Petriho miskou a zahříváme v mikrovlnné peci 60 sekund. Opatrně vyjmeme a obsah promícháme (případně změříme teplotu běžným teploměrem mimo reaktor, teplota by měla být mezi 120 až 130 °C) a zahřejeme v mikrovlnné peci dalších 30 sekund. Po mírném ochlazení přidáme 20 ml studené vody a ponecháme stát 10 minut. Produkt odsajeme a po vysušení zvážíme, vypočítáme výtěžek a stanovíme teplotu tání. Produkt můžeme překrystalizovat z propan-2-olu (ke krystalizaci z cca 10 ml propan-2-olu můžeme opět využít mikrovlnnou pec, k rozpuštění produktu stačí zahřát v přiklopené kádince 10 sekund).

Poznámky: Výtěžek produktu po rekrystalizaci byl 80 % teoretického výtěžku. Při provedení preparace v laboratorních cvičeních klasickým způsobem se používá navíc kyselina fosforečná jako katalyzátor, reakční směs se zahřívá na vodní lázni 90 minut a dosažené výtěžky se pohybují v rozmezí 70–80 %.

#### Reakce maleinanhydridu s antracemem (Dielsova - Alderova cykloadice) (viz schéma 2)

1,8 g antracenu a 0,98 g maleinanhydridu jemně rozetřeme v třecí misce, dáme do kádinky (250 ml), přidáme 5 ml dimethylformamidu a mírně promícháme. Směs zahříváme v mikrovlnné peci 90 sekund. Po ochlazení produkt odsajeme, promyjeme 2 × 5 ml methanolu, po vysušení na vzduchu zvážíme a stanovíme teplotu tání (265–266 °C). Výtěžek je prakticky 100 %. Struktura aduktu je pro studenty ZŠ a SŠ sice

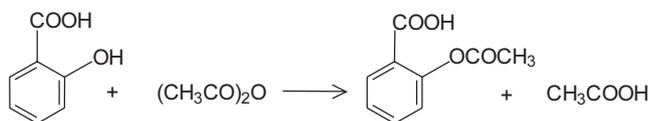


Schéma 1

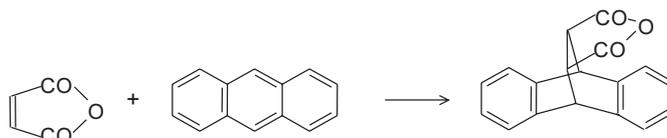


Schéma 2

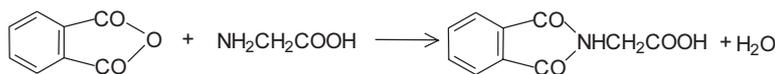


Schéma 3

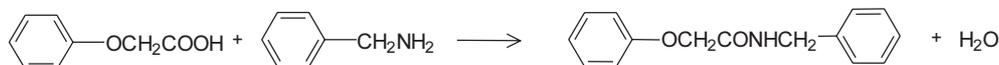


Schéma 4

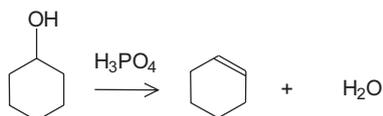


Schéma 5

složitější, ale snad aspoň některým se může zdát velmi zajímavá.

Poznámky: Původní předpis<sup>17</sup> používá místo dimethylformamidu jako rozpouštědlo diethylenglykoldimethylether (diglym), který jsme neměli k dispozici. Kromě dimethylformamidu jsme vyzkoušeli ještě xylen, používaný při klasické syntéze. V tomto případě jsme museli prodloužit dobu ohřevu v mikrovlnné peci z 1,5 minuty na 5 minut, zahřívání jsme za míchání pod zpětným chladičem a výtěžek produktu byl o 15 % nižší než při použití polárnějšího dimethylformamidu, který je pro reakci v mikrovlnném prostředí výrazně vhodnější. Reakce provedená klasickým ohřevem vyžaduje zahřívání pod zpětným chladičem 90 minut<sup>21</sup>.

#### Příprava ftaloylglycinu (viz schéma 3)

1,48 g ftalanhydridu a 0,75 g glycinu jemně rozetřeme v třecí misce, dáme do kádinky objemu 250 ml, přidáme 5 ml dimethylformamidu, kádinku přikryjeme Petriho miskou a 60 sekund zahříváme v mikrovlnné peci. Směs ochladíme, přidáme 10 ml vody a odpaříme na vakuové rotační odparce. Surový produkt překrystalizujeme z 10 ml ethanolu. Stanovíme teplotu tání a vypočteme výtěžek.

Poznámky: V původním předpisu<sup>17</sup> je uveden navíc katalyzátor (0,25 ml *N*-methylmorfolinu) a produkt by se měl po přidání vody vyloučit. V našem případě se krystalický produkt nevyloučil. Rozpouštědlo bylo proto odpařeno na vakuové odparce a produkt byl překrystalizován z ethanolu. Výtěžek ftaloylglycinu po rekrystalizaci byl cca 50 % teoretického výtěžku. Reakce provedená klasickým ohřevem (v toluenu) vyžaduje 2 hodiny zahřívání při teplotě varu<sup>22</sup>.

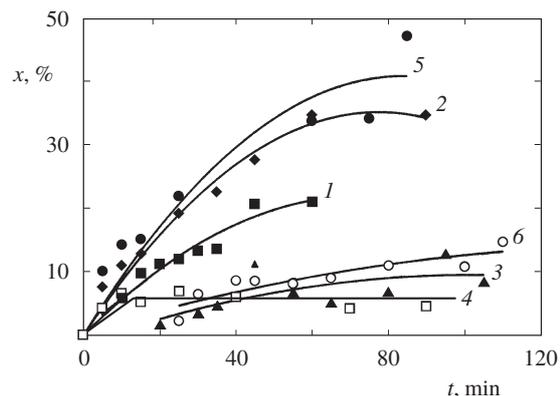
#### Příprava *N*-benzylamidu kyseliny fenoxyoctové (viz schéma 4)

Do 100 ml baňky dáme 1,52 g kyseliny fenoxyoctové, 1,1 ml benzylaminu, vložíme magnetické míchadélko a za stálého míchání pod zpětným chladičem zahříváme v mikrovlnné peci 5 minut, dokud veškerá kyselina fenoxyoctová nepřejde do kapalné fáze. Reakční směs ponecháme v digestoři 2 minuty částečně ochladit a pak ji rozpustíme ve 30 ml acetonu. K roztoku přidáme 30 ml hexanu (pokud nedoručí k rozpuštění, tak obsah mírně zahřejeme) a ponecháme chlad-

Tabulka I

Množství 85% kyseliny fosforečné a způsob ohřevu u pokusů 1–6

Číslo pokusu	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> [g]	Způsob ohřevu
1	41	mikrovlnný (7 W)
2	41	mikrovlnný (700 W)
3	41	klasický
4	51	mikrovlnný (7 W)
5	51	mikrovlnný (700 W)
6	51	klasický



Obr. 1. Závislost konverze cyklohexanolu  $x$  (%) na čas  $t$  (min) pro pokusy 1 – 6; jednotlivé křivky odpovídají pokusům uvedeným pod stejnými čísly v tabulce I: 1 – 41 g H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, MW ohřev 7 W; 2 – 41 g H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, MW ohřev 700 W; 3 – 41 g H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, klasický ohřev; 4 – 51 g H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, MW ohřev 7 W; 5 – 51 g H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, MW ohřev 700 W; 6 – 51 g H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, klasický ohřev

nout v digestoři až do vyloučení krystalů. Teplota tání produktu byla v rozmezí 152–160 °C.

Poznámky: Podle původního předpisu<sup>17</sup> byla doba zahřívání v mikrovlnné peci pouze 90 sekund a směs byla zahřívána bez míchání ve 250 ml kádince přikryté Petriho miskou. I v tomto případě však zůstala část kyseliny nezreagovaná. Pokud není k dispozici mikrovlnná pec upravená pro magnetické míchání, je lepší po 90 sekundách ohřevu směs mimo pec promíchat a opět zahřát v mikrovlnné peci k varu, případně postup zopakovat, dokud kyselina fenoxyoctová nepřejde do roztoku. Místo acetonu lze k rozpuštění surového produktu použít i ethylacetátu.

### Dehydratace cyklohexanolu na cyklohexen (viz schéma 5)

Do 250 ml dvouhrdlé reakční baňky s 60 ml cyklohexanolu přidáme příslušné množství 85 % kyseliny fosforečné (příklady viz tabulka I) a reakční směs vyhřejeme na 125 °C buď na olejové lázni nebo v mikrovlnném reaktoru MREOS (viz tabulka I). Při této teplotě zahříváme za míchání pod zpětným chladičem (60–100 minut, viz obr. 1). V pravidelných časových intervalech odebíráme vzorky (1 ml), zředíme 2 ml vody a extrahujeme do toluenu. Toluenný extrakt protřepeme 2 ml roztoku uhličitanu sodného a analyzujeme pomocí plynové chromatografie (množství cyklohexanolu a cyklohexenu stanovíme pomocí kalibrační křivky). Podrobnější výsledky pokusů, výpočty konverzí pro jednotlivé pokusy v závislosti na čase jsou uvedeny v diplomové práci H. Ondřeje<sup>18</sup>, zde je uveden pro ilustraci pouze výsledný graf závislosti konverze cyklohexanolu na cyklohexen pro jednotlivé pokusy. Graf názorně ukazuje vyšší reakční rychlost u reakcí provedených v mikrovlnném prostředí (výjimkou je pokus č. 4, u kterého výkon reaktoru 7 W již nestačil na vyhřátí směsi k varu).

*Experimentální práce byla vykonána díky podpoře Fondu rozvoje vysokých škol. Za odborné vedení studenta Hynka Ondřeje při pokusech o dehydrataci cyklohexanolu v mikrovlnném prostředí děkuji Ing. M. Hájkovi a jeho spolupracovníkům z mikrovlnné laboratoře Ústavu chemických procesů AV ČR v Praze–Suchbale. Za spolupráci při ověřování ostatních uvedených pokusů na katedře chemie PF UJEP děkuji studentce Janě Ryndové.*

### LITERATURA

- Gedye R. N., Smith F., Westaway K., Ali H., Baldisera L., Laberge L., Rouselt J.: *Tetrahedron Lett.* 27, 279 (1986).
- Giguere R. J., Bray T. L., Duncan S. M.: *Tetrahedron Lett.* 27, 4945 (1986).
- Toma Š.: *Chem. Listy* 87, 627 (1993).
- Kingston H. M., Haswell S. J.: *Microwave-Enhanced Chemistry*. American Chemical Society, Washington, D.C. 1997.
- International Conference on Microwave Chemistry, September 6–11, Prague* (Hájek M., ed.), Book of Abstracts. Int. Chem. Proc. Fundamentals, Praha 1998.
- Zischka M., Kettisch P., Kainrath P.: *At. Spectrosc.* 19, 223 (1998).
- Perez-Cid B., Lavilla I., Bendicho C.: *Anal. Chim. Acta* 378, 201 (1999).
- Sahuquillo A., Rauer G.: *Analyst* 124, 1 (1999).
- Sarawatti R., Vetter T. W., Watters R. L.: *Analyst* 120, 95 (1995).
- Llompart M. P., Lorenzo R. A., Cela R. F., Li K., Belanger J. M. R., Pare J. M. J.: *J. Chromatogr., A* 774, 243 (1997).
- Tomaniová M., Hajšlová J., Pavelka J., Kocourek V., Holadová K., Klímová I.: *J. Chromatogr., A* 827, 21 (1998).
- Hájek M.: *Bull. CSH 1992/1993*, 1–3.
- Abramovitsch A., Abramowitsch D. A., Tamareseľny K.: *Tetrahedron Lett.* 32, 5251 (1991).
- Gedye R. D.: *International Conference on Microwave Chemistry, September 6–11, Prague* (Hájek M., ed.), Book of Abstracts, PL3. Int. Chem. Proc. Fundamentals, Praha 1998.
- Banik B. K., Barakat K. J., Wagle D. R., Manhas M. S., Bose A. K.: *J. Org. Chem.* 64, 5746 (1999).
- Ng L. T., Chia L. H. L.: *Polym. Int.* 48, 952 (1999).
- Bose A. K.: *Microwave Instant Lab™ the Bunsen Burner of 21<sup>st</sup> Century™*. Kemtec Education Corporation, USA 1997.
- Ondřej H.: *Diplomová práce*. PF UJEP, Ústí nad Labem 2001.
- Československý lékopis*, 4. vyd., sv. 1. Avicenum, Praha 1987.
- Šafránková P.: *Diplomová práce*. PF UJEP, Ústí nad Labem 2000.
- Dermer O. C., King J.: *J. Am. Chem. Soc.* 63, 3232 (1941).
- Bose A. K., Greer F., Price C. C.: *J. Org. Chem.* 23, 1335 (1958).

**J. Šauliová** (*Faculty of Education, Department of Chemistry, J. E. Purkyně University, Ústí nad Labem*): **Utilization of Microwave Heating in Laboratory Training of Students and Demonstration Experiments**

The article sums up main advantages of microwave heating, which can be used in laboratory training of students in all types of schools. It also gives several examples of checked chemical experiments which could find use in laboratory training of students in organic chemistry or biochemistry or possibly as demonstration experiments in teaching chemistry. Detailed procedures and other checked experiments will be given in the appendix to instructions for laboratory training, which is currently in preparation.

**CHÉMIA KAŽDODENNÉHO ŽIVOTA****MÁRIA GANAJOVÁ a IVANA DUNČKOVÁ**

*Oddelenie didaktiky, Prírodovedecká fakulta, Univerzita P. J. Šafárika, Moyzesova 11, 041 54 Košice, Slovenská republika  
e-mail: ganajova@kosice.upjs.sk*

Došlo dňa 2.XI.2001

Kľúčové slová: chémia každodenného života, učebný text, chemický experiment

Náš každodenný život ovplyvňuje možno viac ako iné vedné odbory práve chémia. Zasahuje prakticky do všetkých sfér nášho života, častokrát bez toho, aby sme si to uvedomovali. To pochopiteľne zvyšuje nároky na chémiu ako na vyučovací predmet. Avšak medzi výučbou chémie a každodenným životom sa vytvára len veľmi málo styčných bodov.

V súčasnosti sa mnohí odborníci, ako didaktici chémie, pedagógovia, psychológovia a chemici snažia skvalitniť výučbu chémie. Na základe toho dochádza k výrazným zmenám v obsahu učiva chémie, ktoré sa čoraz viac prikláňa k praxi a každodennému životu. Rozpracováva sa okruh tém „každodenný život a chémia“, ktorý zahŕňa vzťah chémie ku každodennému životu a dbá aj na ochranu životného prostredia. Cieľom tohto článku je poukázať na to, čo to chémia každodenného života je a ako sa prejavuje vo výučbe na slovenských a zahraničných školách.

**Čo je to chémia každodenného života?**

Pod pojmom chémie každodenného života vo všeobecnosti rozumieme zaoberanie sa látkami a dejmi, ktoré slúžia na uspokojovanie potrieb človeka. A. Maslow rozdelil potreby človeka do štyroch hierarchicky usporiadaných rovín<sup>1,2</sup>:

1. základné podmienky pre prežitie (potrava, zdravie, oblečenie, bývanie a hygiena)
2. ochrana proti nebezpečenstvám (potraviny, voda, vzduch)
3. sociálna príslušnosť (komunikácia, kultúra, doprava)
4. uznanie a seberealizácia (práca, voľný čas, spolurozhodovanie, zodpovednosť).

Každý stupeň tejto hierarchie potrieb súvisí s celým radom chemických dejov a procesov, z ktorých mnohé sú včlenené do vyučovania chémie, niektoré sú dokonca nosnými témami vyučovania chémie.

Pojem chémie každodenného života možno chápať v užšom i širšom slova zmysle:

- v užšom slova zmysle – ako oblasť, ktorá sa zameriava na tri aspekty:

*vyučovanie chémie – chémia každodenného života – spoločnosť*

Témy sa majú voliť tak, aby obsahovali všetky tri aspekty „chémie každodenného života“. Napríklad pri preberaní témy

Znečisťovanie ovzdušia sa žiaci oboznámia so škodlivými látkami, ktoré znečisťujú vzduch, a so vznikom týchto látok. Chýbajú tu však informácie o možnostiach nápravy, odstránenia alebo zníženia obsahu týchto škodlivín, ako aj ekonomická stránka tejto problematiky, t.j. náklady potrebné na realizáciu týchto náprav. Učiteľ by nemal zabudnúť informovať žiakov aj o týchto veciach.

- v širšom slova zmysle – ako oblasť, ktorá sa zameriava na aspekty:

*vyučovanie chémie – chémia každodenného života*

Témy sa preberajú podľa rámcových možností príslušného typu školy. Výber situácií a javov musí byť prístupný, pochopiteľný, aby sa mohlo nadväzovať na už získané vedomosti, schopnosti a zručnosti žiakov, napríklad Prací prášok, jeho zloženie a pôsobenie jednotlivých komponentov moderného pracieho prášku, Znečisťujúce látky v ovzduší, ich vznik a odstránenie.

*chémia každodenného života – spoločnosť*

Témy, ktoré sa týkajú chémie každodenného života a spoločnosti, sú väčšinou mimo vyučovania chémie. V rámci školy sa týchto tém možno dotknúť počas rôznych školských i mimoškolských akcií. Tiež pri vzdelávaní dospelých na univerzitách a akadémiách je potrebné a motivujúce hovoriť a vyjadrovať sa k otázkam chémie každodenného života (problematike odpadu, energie, recyklizácie a pod.).

*spoločnosť – vyučovanie chémie*

Týka sa to vo veľkej miere mnohých problémov v rôznych odboroch chémie (napr. miesto spaľovne, preprava zvláštného odpadu a pod.).

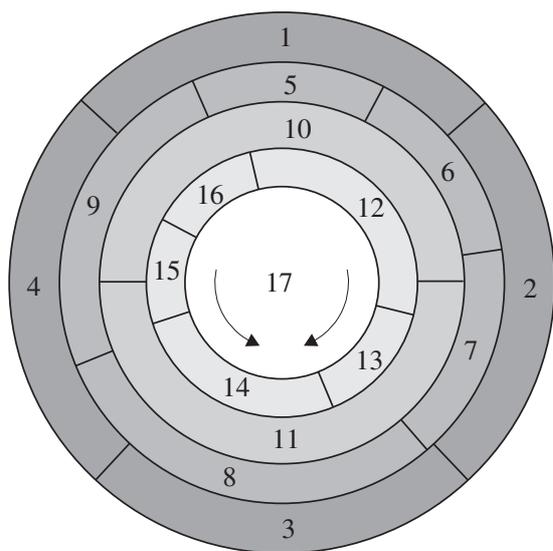
Rozlišovanie chémie každodenného života v užšom a širšom slova zmysle speje v konečnom dôsledku k otázke, ako možno tieto témy vo vyučovaní chémie čo najpriateľnejšie sprístupniť, resp. ktoré by sa mali rozšíriť alebo zredukovať. Tu sa rešpektuje požiadavka, že o redukcii týchto tém by mal rozhodnúť žiak, jeho záujmy, predstavy a schopnosti. To sú podstatné faktory, ktoré ovplyvňujú výber a prípravu tém chémie každodenného života, ale tiež ich aj ohraničujú.

Chémia každodenného života nie je úzky pojem, ktorý sa môže jednoducho prevziať do vyučovania chémie, ale na základe požiadaviek každodenného života je tu daný variabilný rámec pojmu, ktorý závisí od odborných, didaktických a spoločenských možností učiteľa. Je teda v rukách učiteľa, aby tento potenciál zužitkoval pri vyučovaní chémie. Oblasť, v ktorých sa využívajú každodenné skúsenosti s chémiou, ukazuje nasledujúca schéma (obr. 1) (cit.<sup>3</sup>).

Mnohé chemické produkty a deje každodenného života sú včlenené do vyučovania prírodovedných predmetov, niektoré sú dokonca aj nosnými témami prírodovedného vyučovania. Táto téma teda nie je nová, len v poslednom čase čoraz aktuálnejšia<sup>4</sup>.

**Chémia každodenného života v zahraničí**

Chémia zaznamenala prudký rozvoj v priebehu 19. a 20. storočia. Neustále sa získavalo množstvo nových chemických vedeckých poznatkov, ktoré sa postupne zaraďovali do vy-



Obr. 1. **Didaktický potenciál chémie každodenného života**; 1 – vzduch, 2 – voda, 3 – pôda, 4 – príroda, 5 – výroba, 6 – doprava, 7 – služby, 8 – stavebné zásahy/opatrenia, 9 – zabezpečenie energie, 10 – vzdelávanie–pracoviská–zamestnanie, 11 – voľný čas–zotavenie–kultúra, 12 – telesná hygiena, 13 – obliekanie, 14 – domácnosť, 15 – výživa, 16 – zdravie, 17 – hygiena

učovania. Chémia sa tak stala predimenzovanou teoretickými a faktografickými poznatkami, čo znamenalo odklon od praxe a každodenného života.

Na medzinárodných konferenciách pre vyučovanie chémie, ktoré sa konali v posledných rokoch, na to poukazovali viaceré popredné osobnosti. Zhodli sa na potrebe zostavenia takých učebných plánov a osnov, ktoré by zohľadňovali prepojenie s každodenným životom a hospodárstvom, sprístupňovaním takých chemických poznatkov, ktoré pomôžu žiakom porozumieť svojmu okoliu, životnému prostrediu, telu a pod.

Systém vyučovania chémie v krajinách Európskej únie bol podrobený dôkladnej analýze a vyústil do Dohody o jednotnom postupe kultúrneho a prírodovedného vzdelávania krajín Európskej únie<sup>5</sup>. V tomto dokumente sa uvádza, že obsah vyučovania chémie musí byť spájaný s každodenným životom, s bezprostredným okolím žiaka a s hospodárstvom. V obsahu chemického vzdelávania musia byť dominantné tie úlohy, ktoré sa viažu k rôznym formám životného prostredia. Ekologickými problémami sa chemické vzdelávanie nesmie zaoberať povrchno, ale musia byť vytvorené predpoklady pre vecný a motivačný výklad učiva. Z tohto pohľadu je potrebné spracovať témy ako sú Voda, Pôda, Vzduch, zdôrazniť problémové priemyselné chemické procesy, odpady a recykláciu. Vo vzťahu k forme výučby musí mať chemické vyučovanie charakter experimentálneho vyučovania. V priebehu experimentu by sa mali žiaci oboznamovať s kladmi aj zápornými používaniami chemikálií, ako aj pochopiť nebezpečné vlastnosti jednotlivých látok, ako zneškodniť vedľajšie produkty reakcií a dbať na bezpečnosť práce. Žiacke experimenty by sa mali rozvíjať z hľadiska istoty a vecnosti a motivovať žiakov k samostatnej práci mimo školy. Túto didakticky a metodicky

ťažkú úlohu je možné budovať iba cez ucelené sprístupnenie procesov prebiehajúcich v prírode a vo výrobe.

### Chémia každodenného života v nemeckých školách

V Nemecku sa podporuje a propaguje životu blízke, na prax orientované vyučovanie chémie. Základnou požiadavkou, ktorá sa tu rešpektuje, je sprostredkovať základné chemické poznatky a intenzívnejšie sa venovať komplexným súvislostiam, pričom sa kladie dôraz na to, aby sa vychádzalo z priamej skúsenosti žiakov<sup>6</sup>. Do popredia vystupuje tiež požiadavka zdôrazňovať prítomnosť chemických látok v každodennom živote, poznať vo svojom okolí potraviny, nápoje, nábytok, odevy, pracie a čistiace prostriedky. Učebnice chémie obsahujú rozpracované témy týkajúce sa ochrany životného prostredia s jednoduchými pokusmi, ktoré monitorujú stav čistoty ovzdušia, vody a pôdy, ako aj čistenia odpadových vôd, využitia odpadu a recyklizácie.

Obsah učiva chémie vo vzťahu ku každodennému životu je na druhom stupni základnej školy (Hauptschule) spájaný s uvedomovaním si prítomnosti chémie v týchto oblastiach života človeka:

- bývanie (náterové farby, izolačné materiály, syntetické vlákna – záclony, koberce),
- obliekanie (syntetické vlákna),
- výživa (potraviny – vzťah produkcie potravín a použitia hnojív v poľnohospodárstve, chemická ochrana rastlín),
- rastúca mobilita (výroba áut, pneumatiky, benzín, protimrznuce zmesi). Vo vzťahu k životnému prostrediu sa upozorňuje na rizikové faktory životného prostredia, zdôrazňuje sa, že prílišné hnojenie má za následok presolenie pôdy a pokles jej úžitkovosti, že hlavným zdrojom znečistenia vzduchu sú spaľovacie motory, tepelné elektrárne a náhle zásahy človeka do prírody (vypaľovanie pralesov), že rôzne chemické látky zvyšujú počet alergií obyvateľstva a zapríčiňujú nové civilizačné choroby.

Na strednej škole (Realschule) sú to nasledovné témy:

- horenie (zaochádzanie s horľavinami, hasenie požiarov, nové zdroje energie),
- vzduch a kyslík (rozbor vzduchu, kyslík a jeho význam v prírode i v technike, znečisťovanie ovzdušia, ozónová diera, skleníkový efekt),
- iónová väzba (posypová soľ v doprave, soľ a ľudský organizmus),
- kyseliny a zásady (kyslé dažde, vymieranie lesov),
- sacharidy (výživa),
- umelé hmoty (problémy s odstraňovaním odpadu – recyklizácia)<sup>7</sup>.

V súvislosti s výučbou chémie ako prírodovedného predmetu vo vzťahu ku každodennému životu nedá sa nespomenúť projekt PING, ktorý predstavuje koncepciu prírodovedného vzdelávania na druhom stupni základných škôl. Názov tejto koncepcie je akronym pozostávajúci zo 4 začiatkových písmen slov „Praxis Integrierter Naturwissenschaftlicher Grundbildung“, čo v preklade znamená „Integrované prírodovedné vzdelávanie v praxi“<sup>8</sup>.

Táto didaktická koncepcia obsahuje vyjadrenia k vzdelávacím princípom, obsahu, cieľom, organizačným formám

a učebným témam prírodovedného vzdelávania a taktiež k samotnému stvárneniu vyučovacieho procesu. Obsah vzdelávania je v koncepcii PING rozšírený o vzťah človeka k prírode a obsahuje zážitky, vedomosti a skúsenosti o prírode a jej rozličných podobách. Nutne tak v sebe zahŕňa aj vedu a techniku, ich metódy, spoločné princípy a spoločný program s ich pojmovou diferenciáciou pre rôzne bežné a odborné problémy a cez nich vytvárané predstavy o svete. Obsah vzdelávania možno vo vzťahu k vekovej úrovni žiakov zahrnúť do troch stupňov podľa úrovne osvojenia si poznatkov:

1. stupeň: vek 10–12 rokov (5. a 6. ročník základnej školy): Žijem s prírodou, získavam z nej skúsenosti a učím sa ju opísať
2. stupeň: vek 13–14 rokov (7. a 8. ročník základnej školy): Stretávame sa s prírodou, sami ju pretvárame a učíme sa to interpretovať
3. stupeň: vek 15–16 rokov (9. a 10. ročník základnej školy): Príroda sa vyvíja a človek objasňuje jej zákony a podieľa sa na jej vytváraní

Túto následnosť je potrebné dodržiavať pri rozvoji poznatkov detí a mládeže, pričom v nižších ročníkoch sa pripravuje základ pre ďalšie získavanie vedomostí a naopak, vo vyšších ročníkoch sa vychádza z už získaných vedomostí. Základnou požiadavkou je nájsť nosnú tému a na jej základe vytvoriť súbor tém pre jednotlivé vyučovacie celky a pre jednotlivé vyučovacie jednotky. Nosnou témou koncepcie PING je téma: „Ako môžeme my, ľudia, spolu budovať náš vzťah k prírode v súlade s ľudskými právami a v súlade s prírodnými zákonmi“.

### Chémia každodenného života v rakúskych školách

Na rakúskych školách je k dispozícii okrem základných chemických učebníc množstvo ďalších alternatívnych učebných textov. Medzi učiteľmi a študentmi je najobľúbenejšia alternatívna učebnica chémie „Chemie heute“<sup>9</sup>, ktorá odráža vzťah chémie a každodenného života v témach, ako sú Voda, Vzduch, Pôda, Svet látok, Kyseliny a zásady v každodennom živote, Od surovín k produktom, Odpadové látky.

Veľká pozornosť sa venuje rozvíjaniu experimentov chémie každodenného života, ktoré rešpektujú požiadavku ochrany životného prostredia. Jednoduché pokusy rozpracované hlavne Mgr. Viktorom Obendraufom z Pedagogickej Akadémie v Grazi sú uskutočňované prostredníctvom špeciálnych laboratórnych pomôcok založených na báze injekčných striekačiek a svojou nápaditosťou, ekonomickou prístupnosťou, hygienickou a bezpečnostnou primeranosťou sú vhodné pre žiakov základných a stredných škôl. Učitelia chémie slovenských základných a stredných škôl mali možnosť vidieť a odskúšať si tieto pokusy v rámci programu Letnej školy chémie, ako aj v rámci workshopov projektu Tempus. Na týchto pokusoch uskutočňovaných v jednoduchom vyvíjači plynov oceňovali predovšetkým to, ako dokonale riešia dnešné problémy slovenských škôl:

- pokusy vyžadujú minimálne množstvo chemikálii (finančné hľadisko),
- vytvorením uzavretých systémov v striekačkách nevyžadujú použitie digestorov (hygienické, finančné a bezpečnostné hľadisko),

- sú časovo nenáročné, čo umožňuje ich využitie v ktorejkoľvek fáze vyučovacej hodiny.

### Chémia každodenného života v britských školách

Britský vzdelávací systém na základných školách vychádza z prvkov každodenného života. V úvodných hodinách riešia žiaci problémové úlohy začlenenia človeka do spoločnosti, ktoré súvisia s jeho životným okolím (dom, ulica, záhrada, ihrisko, rieka)<sup>10</sup>, napr. sledujú rieku a jej okolie, skládky odpadu apod., analyzujú spoločné a rozdielne vlastnosti rôznych foriem materiálov (vzduch, voda, kamene, kuchynské nádoby). Získané poznatky a údaje systematicky triedia do tabuliek, grafov a diagramov, ktoré potom prezentujú ostatným spolužiakom formou triednej diskusie. Táto forma práce je charakteristická pre britský školský systém, ktorý vychádza z predpokladu, že žiaci sú prirodzení vedci, rodení výskumníci s prirodzenou kreativitou<sup>11</sup>. Ďalšou charakteristickou črtou pre výučbu chémie v britských školách sú praktické cvičenia v prírode, ktoré sa uskutočňujú skupinovú alebo individuálnou formou. Skupiny navzájom konzultujú problémy a spolupracujú. Rozhodujúcim kladným prvkom práce v skupinách je podpora nezávislého myslenia a konzultovanie myšlienok v téme. Úlohou učiteľa je nechať žiakov formulovať a vyjadriť názor, dohodnúť sa so žiakmi na termínoch konzultácií na preriešenie problému, na forme a obsahu výsledného protokolu<sup>12</sup>.

Čo sa týka obsahu tém vychádzajúcich z každodenného života, dôraz sa kladie na vzťah pojmov život–chemikálie–chémia. Témy obsahujú nasledovné okruhy: zloženie potravín (dusičnany, soľ, farbivá), diéta (stravovacie návyky, hygiena), vplyv kyselín a zásad na rast rastlín, použitie pesticídov, fluorizácia vody, recyklizácia prvkov a odpadových látok, vzduch, kyslík a dýchanie, CO<sub>2</sub> a fotosyntéza, fajčenie a jeho vplyv na zdravie, antibiotiká a liečivá, farbivá a látky získavané z rastlín, biotechnológie a bioplyn – zdroje energie, biotechnológie, inžinierstvo a DNA.

### Chémia každodenného života v slovenských školách

Napriek tomu, že chémia zohráva a bude naďalej zohrávať v každodennom živote človeka čoraz väčšiu úlohu, pre väčšinu žiakov základných a stredných škôl na Slovensku patrí medzi neobľúbené vyučovacie predmety. Potvrdzujú to viaceré výskumy realizované u nás v poslednom období: na Katedre didaktiky prírodných vied, psychológie a pedagogiky na Prírodovedeckej fakulte Univerzity Komenského v Bratislave<sup>13</sup>, v Metodickom centre v Prešove<sup>14</sup>, ako aj na Katedre chémie v Banskej Bystrici<sup>15</sup>.

Obsah a rozsah učiva chémie pre určitý typ školy a každý ročník určujú v Slovenskej republike učebné osnovy schválené Ministerstvom školstva Slovenskej republiky, v ktorých učivo je prezentované predovšetkým vymenovaním poznatkov, ktoré treba sprístupniť žiakom. Pri výbere obsahu a jeho štruktúrovaní bolo uplatnené hľadisko logickej výstavby didaktického systému chémie s funkčným zaradením informácií a činností zameraných na uplatnenie chémie v každodennom živote<sup>16</sup>. Ciele spomínaných učebných osnov pomáhajú reali-

zovať aj učebné osnovy environmentálnej výchovy pre základné a stredné školy (tzv. Environmentálne minimum) schválené Ministerstvom školstva Slovenskej republiky, na základe ktorých cieľom environmentálnej výchovy žiakov základných a stredných škôl je formovať a rozvíjať také kvality, ktoré ich uschopnia chrániť a zlepšovať životné prostredie<sup>17</sup>.

S uvedenými učebnými osnovami ale nekorešpondujú v plnej miere platné učebnice chémie pre základné a stredné školy, nakoľko nedostatočne zohľadňujú aspekty chémie každodenného života v porovnaní s teoretickými poznatkami. Jedinou tohto druhu je alternatívna učebnica Chémia pre základné školy, ktorá je nemeckým prekladom. Učivo chémie v tejto učebnici je spájané s vecami a predmetmi každodenného života a tiež spĺňa kritéria environmentálneho vzdelávania. Obsahuje mnoho obrázkov, prehľadných tabuliek, grafov a úloh, ktoré napomáhajú žiakom lepšie pochopiť veci a javy okolo nás, a to na základe ich chemickej podstaty. V súčasnosti je situácia na Slovensku taká, že učiteľom základných a stredných škôl chýbajú ucelené materiály, ktoré by sa zaoberali problematikou chémie každodenného života. Materiály k tejto problematike získavajú iba parciálne, preto treba pristúpiť k vypracovaniu ucelených materiálov, ktoré by obsahovali rozširujúce a prehľbujúce učivo vo forme textu, otázok a úloh a návrhu chemických experimentov z chémie každodenného života a ktoré by učitelia chémie mohli využívať pri riadení poznávacích činností žiakov, pri opakovaní a prehĺbení učiva a pri hodnotení úrovne myslenia žiakov<sup>18</sup>.

Je naozaj potrebné, aby žiaci prekonali predstavu, že chémia je zodpovedná za znečisťovanie životného prostredia, za alergie a civilizačné choroby. Musia si uvedomiť, že chemické reakcie a ich produkty nás sprevádzajú denne našim životom, že chémia je vlastne dýchanie, trávenie, ale aj umývanie rúk a varenie. Preto je nutné oboznámiť žiakov s kladmi a prípadnými negatívami chemických dejov, s ich princípom, ale aj s mierou nebezpečnosti produktov. V tomto svetle je možné predkladať chemické poznatky ako zaujímavé problémy a fakty, ktoré sú neoddeliteľne späté so životom každého človeka a mnohokrát sú pre neho nevyhnutne potrebné. Vyučovanie chémie má pripomínať, že chémia je všade okolo nás, je zaujímavá, môžeme ju spoznať a vysvetlí nám tak veľa z diania nášho života.

#### LITERATÚRA

- Maslow A. H.: *Motivation and Personality*. Harper & Row, New York 1954.
- Zelina M.: *Stratégia a metódy rozvoja osobnosti dieťaťa*. IRIS, Bratislava 1996.
- Pfeifer P., Häusler K., Lutz B.: *Konkrete Fachdidaktik Chemie*. Oldenburg Verlag, München 1992.
- Lindemann H., Brinkmann U.: *Naturwissenschaften im Unterricht – C 24*, 29 (1994).
- Naji M.: *Chem. Schule* 2, 25 (1993).
- Lutz B., Pfeifer P.: *MNU* 42, 281 (1989).
- Ennwurf Lehrplan Chemie an der Realschule in Nordrhein*. AOK-Verlag, Westfalen 1992.
- Kirsch N.: *Was ist PING?* IPN, Kiel 1996.
- Becker R.: *Chemie heute*. Salzburger Jugend-Verlag, Salzburg 1993.
- Lines C. J., Bolwell L. H.: *Teaching Environmental Studies in the Primary and Middle School*. Ginn and Co., London 1987.
- Tschirgi J. E.: *Sensible Reasoning: A Hypothesis about Hypotheses*. Child Development, London 1980.
- Elstgeest J.: *Environmental Science in the Primary School*. Chapman Publ., London 1990.
- Silný P.: *Biol. Ekol. Chem.* 1, 2 (1996).
- Lavický T.: *Didaktické testy zo všeobecnej chémie pre stredné školy*. Metodické centrum, Prešov 1997.
- Melicherčík M., Ružička I., Tomeček O., Daxnerová O., Gajdošová M., Lichvárová M.: *Zborník príspevkov z riešenia integrovanej grantovej úlohy: Súčasný problémy vyučovania chémie na ZŠ*, str. 34. Trian, Banská Bystrica 1997.
- Turek I.: *Zvyšovanie efektívnosti vyučovania*. Metodické centrum, Bratislava 1997.
- Učebné osnovy environmentálnej výchovy pre základné a stredné školy*. Ministerstvo školstva Slovenskej republiky, Bratislava 1996.
- Ganajová M., Gibalová I., Müllerová V.: *Chemia* 14, 24 (2000).

**M. Ganajová and I. Dunčková** (*Department of Methodology of Chemistry Teaching, Faculty of Science, P. J. Šafárik University, Košice, Slovak Republic*): **Chemistry of Everyday Life**

In many countries, main stress in teaching chemistry is put at present on the relation between chemistry and everyday life. From that point of view, the chemistry syllabus has to be closely related to everyday life and environment. Slovak chemistry teachers at elementary and secondary schools have access only to few comprehensive materials on these topics in comparison with some foreign countries. We assume that educational texts, experiments and electronic media dealing with chemistry of everyday life can contribute to higher effectiveness of chemistry education, better motivation of chemistry learning, a change in the relation teacher – student, and change in methods and forms of chemistry education.